

UNIVERSITÉ DE NANTES

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE NANTES

ANNÉE 1966-1967

N° 5

Première Thèse :

**RECHERCHE DE DÉRIVÉS DE L'HEXADIÉNOÏQUE
POSSÉDANT UNE ACTIVITÉ ANTIFONGIQUE**

Deuxième Thèse :

Propositions données par la Faculté

THÈSES

pour l'obtention du grade de

DOCTEUR D'ÉTAT EN PHARMACIE

Présentées et soutenues publiquement

le Janvier 1967

par

Loïck R. SPARFEL

né le 22 Novembre 1937 à BREST

Pharmacien

Licencié ès Sciences

Assistant à la Faculté

Membres du Jury : Monsieur le Professeur PLOQUIN, Président
Monsieur le Professeur MONNET, Juge
Monsieur le Professeur FOUCAUD, Juge

UNIVERSITÉ DE NANTES

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE NANTES

ANNÉE 1966-1967

N° 5

Première Thèse :

**RECHERCHE DE DÉRIVÉS DE L'HEXADIÉNOÏQUE
POSSÉDANT UNE ACTIVITÉ ANTIFONGIQUE**

Deuxième Thèse :

Propositions données par la Faculté

THÈSES

pour l'obtention du grade de

DOCTEUR D'ÉTAT EN PHARMACIE

Présentées et soutenues publiquement

le *Janvier 1967*

par

Loïck R. SPARFEL

né le 22 Novembre 1937 à BREST

Pharmacien

Licencié ès Sciences

Assistant à la Faculté

Membres du Jury : Monsieur le Professeur PLOQUIN, Président

Monsieur le Professeur MONNET, Juge

Monsieur le Professeur FOUCAUD, Juge

A mes grand-parents,

A mes parents,

A mes beaux-parents,

A ma femme, à mon fils,

A ma famille,

A mes amis.

A Monsieur le Professeur R. MONNET

Assesseur du Doyen

Professeur de Matière Médicale et Pharmacologie

qui a bien voulu nous faire
l'honneur de juger notre thèse,
et dont l'obligeance à notre
égard ne s'est jamais démentie.

Qu'il veuille bien trouver ici
l'expression de notre profonde
gratitude et de nos sentiments
les plus respectueux.

A Monsieur le Professeur A. FOUCAUD

Professeur de Botanique et de Cryptogamie

qui nous a fait l'honneur de faire
partie de notre jury de thèse.

Nous avons été très sensible à
la bienveillance qu'il nous a
toujours témoignée.

Qu'il nous permette de lui ex-
primer ici nos sentiments res-
pectueux et dévoués.

A Messieurs les Professeurs de la Faculté de Médecine
et de Pharmacie de Nantes

Nous leur exprimons nos
sentiments de sincère reconnaissance.

A tout le Service de Pharmacie Chimique

pour son aide efficace tout au
long de ce travail.

En témoignage d'amitié.

FACULTE MIXTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE DE NANTES

- : - : - : -

Doyen Honoraire de la Faculté M. AUVIGNE

Professeurs Honoraires de l'Ecole de Plein Exercice, de l'Ecole Nationale et de la Faculté :

MM. DALLONGEVILLE, GUERITHAULT, GUEGUEN, LEROUX, PERRIN, PICARD.

Doyen : M. Y. BOQUIEN

Assesseurs : M. R. MONNET

M. J. P. KERNEIS

Professeurs Titulaires de Chaires

MM.

Y. BOQUIEN	Clinique Médicale B
R. BUREAU	Clinique Chirurgicale Infantile et Orthopédique
Y. BUREAU	Clinique Dermatologique
J. DELAIRE	Clinique Stomatologique
P. DESCUNS	Clinique Neuro-Chirurgicale
A. FOUCAUD	Botanique
H. GIROIRE	Clinique Neurologique
J. GRISLAIN	Clinique Médicale Infantile
R. GUIHARD	Physique
J. GUILLON	Pathologie Médicale
J. HOREAU	Clinique Médicale A
P. HOULNE	Clinique Obstétricale
J. P. KERNEIS	Anatomie Pathologique
J. LEGRAND	Clinique Ophtalmologique
E. P. LOSSOUARN	Chimie Pharmaceutique
P. MALVY	Pathologie chirurgicale
R. MONNET	Matière Médicale et Pharmacologie
M. MOUSSEAU	Clinique Chirurgicale
M. NEDELEC	Clinique Urologique
J. PLOQUIN	Pharmacie Chimique
M. ROUZET	Pharmacie Galénique
Y. STEPHAN	Pharmacodynamie et Chimie Biol. Pharmaceutique
J. TUSQUES	Histologie et Embriologie
P. VERAN	Thérapeutique
C. VERMEIL	Parasitologie et Pathologie exotique

F. VIOLETTE Physiologie

Professeurs titulaires à titre personnel

MM.

E. CORNET	Clinique Chirurgie Thoracique et cardiovasculaire
L. DUMORTIER	Médecine Légale et Médecine du Travail
F. GILLOT	Pédiatrie
P. MINICONI	Médecine Générale
Mme MUSSINI-MONTPPELLIER	Anatomie Pathologique

Professeurs sans Chaire

MM.

J. BARBIN	Anatomie
D. GUIHARD	Physique
F. HERVOUET	Ophtalmologie
E. PICHAT	Anatomie
J. SOURDILLE	Chirurgie Générale

Maîtres de Conférences Agrégés

MM.

F. BARON	O. R. L.
H. BARRIERE	Dermatologie
S. BERNARD	Biochimie Médicale
H. BOITEAU	Toxicologie
A. CATTAN	Cancérologie
A. CHARBONNEL	Neurologie
M. COLLET	Neuro-Chirurgie
J. CORROLLER	Pneumo-Phtisiologie
S. COTTIN	Thérapeutique
A. COURTIEU	Bactériologie
H. DUPON	Chirurgie Thoracique et Cardiovasculaire
A. GAILLARD	Stomatologie
P. GALLE	Physique Biologique
J.D. GINET	Physiologie
D. HERVOUET	Médecine Générale
B. HERZOG	Electroradiologie
M. LERAT	Obstétrique
R. MAINARD	Clinique Médicale Infantile
Ch. MOIGNETEAU	Pneumo-Phtisiologie
Mme F. NICOLAS	Anesthésiologie
G. NICOLAS	Médecine Légale
P. OUDEA	Médecine Générale et Thérapeutique
Mme Y. DE ROECK	Pharmacie Galénique

PLAN

I - <u>INTRODUCTION</u>	page
Classification des principaux produits antifongiques	2
II - <u>GENERALITES - BASES ET PLAN DE NOTRE ETUDE</u> .	14
III - <u>L'ACIDE SORBIQUE</u>	
Structure	20
Préparations	22
Propriétés physiques	27
Propriétés chimiques	29
Dosage	32
Etude des Spectres U.V.	34
Métabolisme	39
Toxicologie	39
Conclusion	41
IV - <u>LES DERIVES DE L'ACIDE SORBIQUE</u>	42
<u>Première partie : Préparations et Etude Chimique des</u> <u>dérivés de l'Acide Sorbique</u>	44
<u>Chapitre I : Les Sels de l'Acide Sorbique</u>	45
A) Les Sorbates Minéraux	47
1) Sorbates Alcalins	47
2) Sorbate de Calcium	47
3) Sorbates de Zinc, Aluminium, Cuivre	48
B) Les Sorbates d'Alcanolammoniums	77

Chapitre II : Dérivés bloquant la fonction acide 83

Les Esters

A) <u>Esters de monoalcools</u>	84
- Préparation :	
1) Estérification directe	85
2) Par l'intermédiaire du chlorure d'acide	85
- Monographie	89
B) <u>Esters de Polyols et dérivés</u>	103
C) <u>Esters d'alcools chlorés</u>	110
D) <u>Esters de Thioglycols et dérivés</u> ...	114
E) <u>Esters d'Alcanolamines et dérivés</u> ...	115

Les Amides

Sorbamide	117
Alkylsorbamides	118
Phénylsorbamide	120
Amides hétérocycliques	120
Aminoalkylsorbamides	121
Hydroxyalkylsorbamides	122
Uréide et Thiouréide	122

Deuxième Partie : Essais Antifongiques 124

Souches utilisées	126
Généralités sur les techniques	128
Résultats ...	131

V - CONCLUSION 144

VI - BIBLIOGRAPHIE 148

I

INTRODUCTION

Les Champignons sont des Thallophytes dépourvus de pigments chlorophylliens. L'hétérotrophie qui en résulte les oblige à vivre, soit en saprophytes sur les matières organiques en décomposition, soit en parasites sur les végétaux, les animaux ou l'homme.

Ce mode de vie des champignons est caractérisé par :

- une grande facilité d'adaptation au milieu sur lequel ils vont se développer,
- des réactions de défense propres à chaque espèce, réactions qui sont fonction du milieu, du pH et des substances antifongiques.

Il en résulte :

- une fonction bénéfique, nuisible ou pathogène pour l'homme, l'animal ou le végétal :

. une fonction bénéfique quand l'homme peut utiliser directement ou non les réactions du champignon (formation de l'humus, fermentations industrielles, applications aux synthèses biologiques, antibiotiques, etc ...),

. une fonction nuisible, plus ou moins pathogène, quand ils altèrent les denrées alimentaires et les médicaments ou qu'ils provoquent des maladies.

Ces quelques observations justifient la nécessité et expliquent les difficultés de la lutte antifongique.

Si, dans le domaine phytosanitaire, des anticryptogamiques extrêmement variés et nombreux ont permis un certain succès à l'heure actuelle, il n'en est pas de même pour la conservation des denrées

alimentaires ou des médicaments, ni surtout pour la lutte contre les maladies provoquées par les champignons sur l'animal ou sur l'homme, ceci du fait que nous sommes toujours limités par une toxicité aiguë ou chronique des produits antifongiques.

Quand on étudie les produits antifongiques, il faut toujours garder à l'esprit que leur action peut être seulement spécifique d'une certaine espèce de champignons, ou même, dans certains cas, d'une variété bien déterminée. Les conclusions à tirer des essais d'activité doivent donc être assez prudentes et l'on doit se méfier des généralisations hâtives.

A. BURGER classe les principaux produits antifongiques de la façon suivante :

1 - Sels métalliques d'Acides gras

Leur action antifongique serait due à l'effet concomitant de l'acide et du métal.

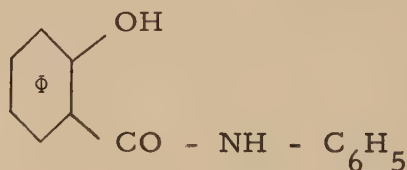
Nous trouvons dans cette série les dérivés des acides acétique, propionique, caprylique et undécylénique sous forme de sels de Cu, Zn, Ca, Hg, Ag, Na.

2 - Dérivés de l'Acide Salicylique

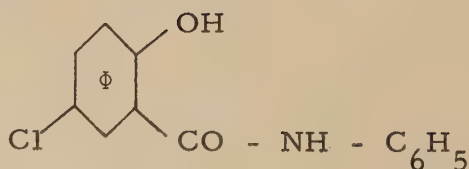
L'action antifongique serait due ici à l'effet kératolytique de l'acide salicylique.

Nous trouvons dans ce groupe :

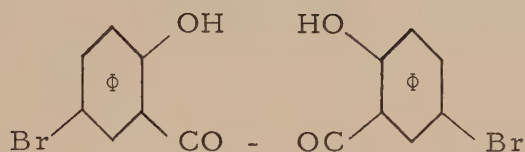
- Le Salicylanilide



- Le Chloro-5 salicylanilide



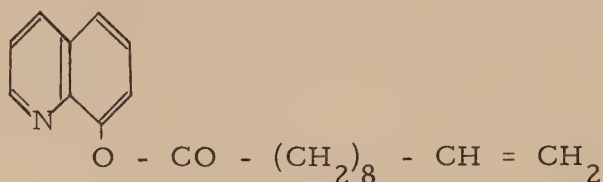
- Le Dibromo-5, 5' salicile



3 - Esters

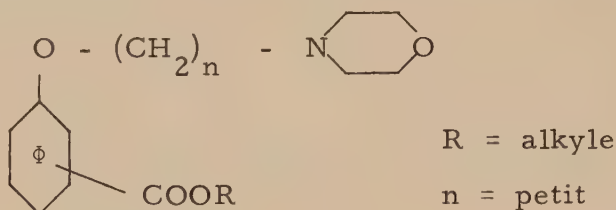
L'action antifongique serait due, soit au résidu alcoolique, soit au résidu acide, soit quelquefois aux deux. Nous trouvons dans cette série :

- L'ester undécylénique de l'hydroxy-8 quinoléine. Les deux constituants sont connus comme ayant séparément des propriétés antiseptiques.

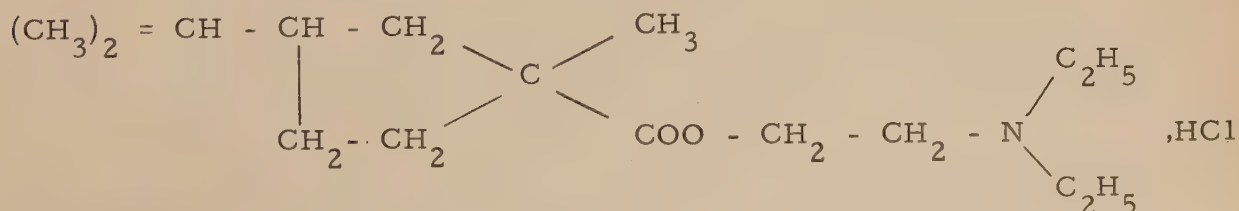


- Des esters alkyliques de l'acide vanillique tel que le vanillate d'éthyle.

- Les éthers des esters p.hydroxybenzoïques qui ont montré in vitro une grande activité antifongique.



- Le chlorhydrate de fencholate de diéthylaminoéthyle qui s'est montré antifongique in vitro, mais qui, en clinique, ne serait valable que dans les histoplasmoses (ELLIS M. et CALLANDER R.J.).

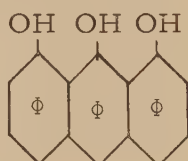


4 - Phénols

Par analogie avec leur grand pouvoir antibactérien, les phénols ont été utilisés contre les champignons. Ils sont doués d'une forte activité fongicide, mais peu employés à cause de leur causticité.

Nous rencontrons cependant dans ce groupe le p.décanoylphénol, des composés biphénoïques, des phénols halogénés. Par exemple, l'éther pentaéthylène glycolique du dichlorocrésol est associé à un ammonium quaternaire, le bromure de dodécyl-diméthyl-carbéthoxyméthyl-ammonium, dans le Fongéryl, préconisé pour le traitement des mycoses superficielles et des eczémas mycosiques.

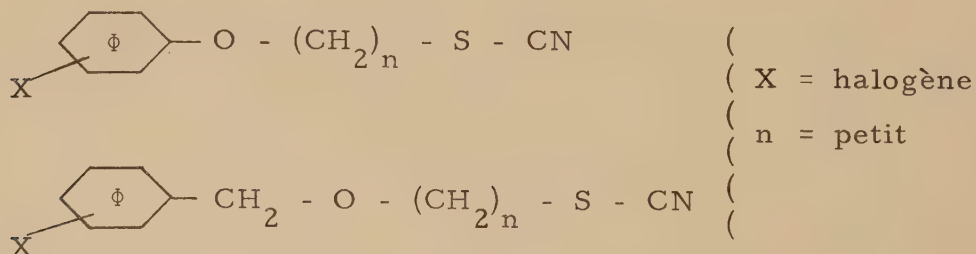
D'autres composés phénoliques ont plutôt des propriétés kératolytiques : les polyphénols, les hydroxy-anthranols, par exemple l'Antraline ou dihydroxy-1,8 anthranol.



5 - Ethers

Les éthers alkyliques des phénols halogénés ont été trouvés moins actifs que les phénols desquels ils dérivent. Par contre, les éthers d'alkyl morpholine et des phénols halogénés sont plus fongistatiques que les phénols correspondants, de même que les éthers d'alkyl morpholine et des esters hydroxybenzoïques.

Certains isothiocyanates, essayés comme antifongiques, présentent également une fonction éther, soit de phénols halogénés, soit d'alcools benzyliques halogénés.



6 - Le Soufre et ses composés

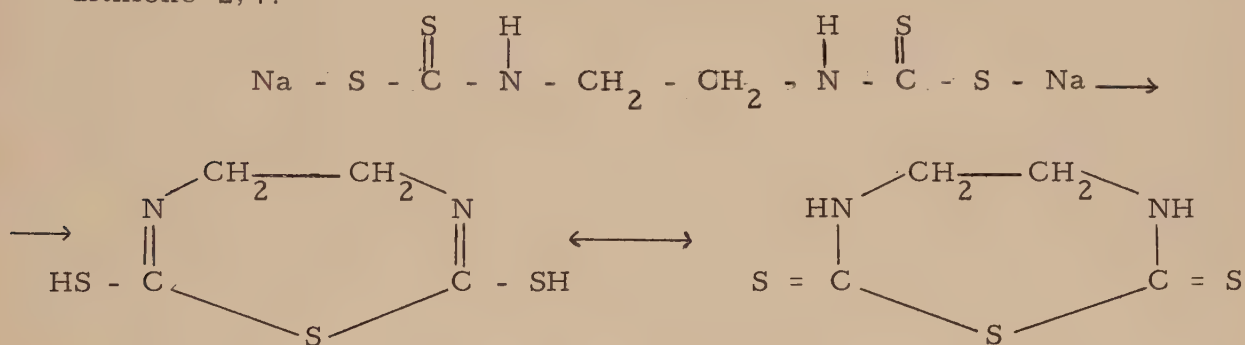
- Le Soufre sous forme colloïdale a longtemps joui d'une réputation favorable dans la thérapeutique des infections superficielles provoquées

par les champignons. Son action est sans doute plus efficace sur les végétaux que sur l'homme.

- En outre, l'anhydride sulfureux a été employé dans le traitement de certaines mycoses.

- Les dithiocarbamates sont généralement actifs sur les dermatophytes humains.

- L'éthylène bis dithiocarbamate disodique produit, par cyclisation désulfurante, un dérivé très actif qui est l'hexahydro thiodiazépine-1, 3, 6 dithione-2, 7.

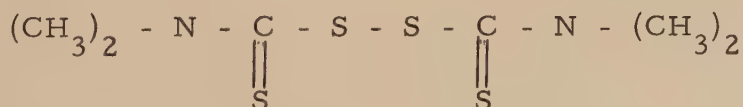


Apparentés aux précédents, on peut citer :

- Les diméthyl dithiocarbamates (sel de sodium surtout)



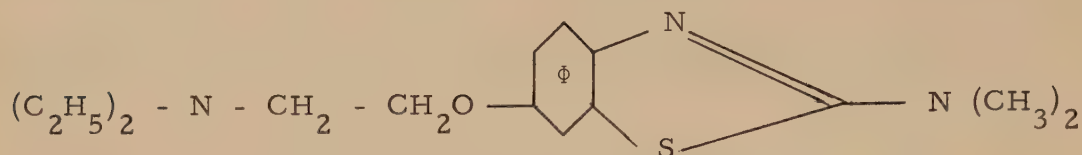
- Le tétraméthyl thiurame (Thiuramyl) qui est peu irritant et se trouve actif vis à vis des Trichophytons.



- Le groupe thio-trichlorométhyle dans $\text{Cl}_3\text{C} - \text{S} - \text{R}$ est intéressant en agriculture avec $\text{R} =$ alkoxy ou amine, mais il l'est peu en clinique humaine.

- Dans le groupe des Benzothiazols, nous trouvons le (β diéthylaminoéthoxy)-6 diméthylamino-2 benzothiazol qui a une application dans la

thérapeutique pour infections superficielles (Diamthazole).

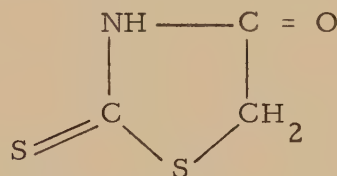


- Parmi les autres hétérocycles azotés et soufrés, citons :

. Les Dithiazoles-1, 2, 4



. et la Rhodanine, qui peut être rattachée aux thiocarbamates.



. D'autre part, les sulfones et certains sulfamides (Sulfadiazine, Sulfamérazine) se sont montrés antifongiques, tout au moins dans certains cas particuliers d'histoplasmoses et de chromoblastomycoses.

7 - Médicaments antihistaminiques

Certains antihistaminiques comme la diphényl-pyrroline, l'Antistine, se sont montrés antifongiques sans qu'on puisse noter un parallélisme entre les deux types d'activité.

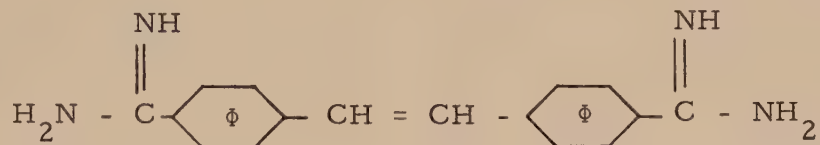
8 - Quinones

Les dérivés des benzoquinones et des naphtoquinones sont des inhibiteurs de nombreux champignons (Tetrachlorobenzoquinone ou Chloranile et Dichloronaphtoquinone ou Dichlone).

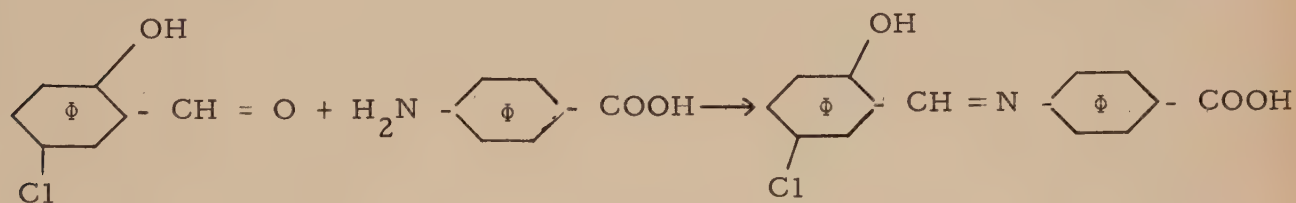
9 - Amidines et composés

Les bisamidines ont une grande activité contre la plupart des champignons pathogènes.

- La Stilbamidine et son dérivé hydroxylé se sont révélés actifs dans les blastomycoses, mais on peut craindre une action néfaste sur le trijumeau.

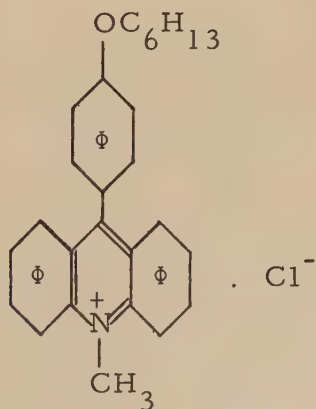


- Dans la série des azométhines, la plus intéressante est obtenue à partir du chloro-5 hydroxy-2 benzaldéhyde et de l'acide p. amino-benzoïque.

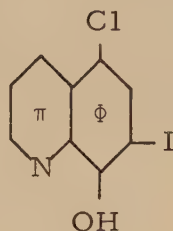


10 - Hétérocycles azotés

- Dans le groupe des phénanthrolines et acridines, l'un des meilleurs serait l'Acrizane



- Les dérivés de la quinoléine sont souvent antifongiques ; nous avons déjà cité l'ester undécylénique de l'hydroxy-8 quinoléine ; l'halogénéation du noyau développe l'action antiseptique. Exemple : l'iodo-7 chloro-5 hydroxy-8 quinoléine.



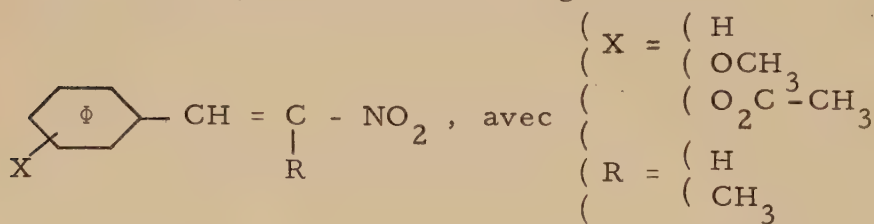
11 - Composés à ammonium quaternaire

Ces composés fortement antibactériens ont été utilisés contre les champignons en applications locales. Nous n'indiquerons ici à titre d'exemples que le chlorure de benzalkonium (chlorure de benzyle, diméthylalkylammonium) et le bromure de dodécyl diméthyl carbéthoxyméthylammonium déjà cité à propos du Fongéryl.

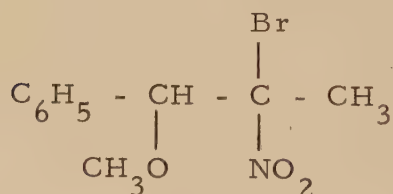
12 - Composés nitrés

Certains dérivés aliphatiques nitrés possèdent un pouvoir antifongique :

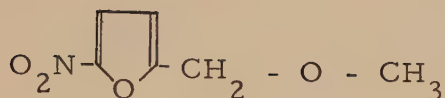
. des nitrostyrènes de formule générale :



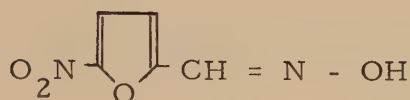
. et le bromo-2 nitro-2 phényl-1 méthoxy-1 propane :



. Dans la série du furanne, nous trouvons des produits comme l'éther méthylique de l'alcool nitro-5 furfurylique :



et la nitro-5 furfuraloxime :



13 - Halogènes

Les dérivés chlorés et bromés ne sont guère utilisés à cause de leur action irritante. Par contre, les dérivés iodés sont souvent prescrits et nous trouvons de nombreux composés comme :

. la diiodométhyl p.tolyl sulfone



En plus de cette classification proposée par BURGER, nous mettrons à part :

1 - Les Colorants

Les colorants étaient connus depuis fort longtemps, mais ils étaient tombés en désuétude dès la venue sur le marché des composés précédemment indiqués. A l'heure actuelle, ces produits sont cependant utilisés dans certaines mycoses cutanées (violet de gentiane, vert brillant, vert malachite, éosine). Malgré les ennuis résultant du pouvoir tinctoriel (sur la peau et le linge), les dermatologues reviennent à cette thérapeutique ancienne, ce qui souligne l'échec de la foule de médicaments récemment proposés.

Cet antibiotique possède une activité sur de nombreux champignons levuriformes et filamenteux comme l'a montré M.E. DROUHET. PATRICK et coll. ont indiqué qu'il s'agissait d'un tétraène, $C_{34}H_{49}NO_{14}$. C'est le premier polyène dont la structure chimique a été définie.

La pimaricine possède une action fongistatique et fongicide qui se manifeste dès les premières heures de contact. Son spectre antifongique est très large et elle est particulièrement active sur les Candida et les Dermatophytes.

. Dans le groupe des Pentaènes, nous trouvons la fungichromine, la fungichromatine, la filipine.

. Parmi les Hexaènes, on rencontre la flavocine.

. Dans les Heptaènes, nous mentionnerons l'amphotéricine B, la trichomycine, l'ascosine, la candidine, la candicidine.

Les structures de ces antibiotiques polyéniques sont très voisines de celle de la pimaricine donnée plus haut à titre d'exemple.

b) Les Antibiotiques polyacétyléniques

Ces antibiotiques sont également intéressants du point de vue structure, mais ils sont souvent toxiques et encore plus instables que les polyéniques. On les extrait généralement des basidiomycètes.

. La mycomycine est produite, par exemple, par Nocardia acidophilus. La structure de la mycomycine a été établie par CELMER et SALOMONS.



. L'isomycomycine a été obtenue par synthèse.



. L'agrocybine, extraite de Agrocyba dura, est l'hydroxy-8 octa triyne-2,4,6 amide.

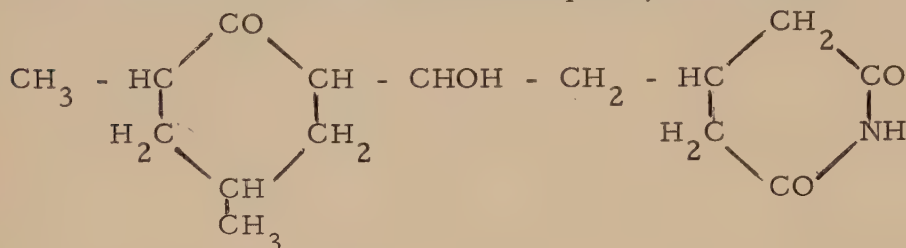


. On rencontre aussi dans ce groupe la némotine, la diatrétine, la drosophiline et la cellocidine.

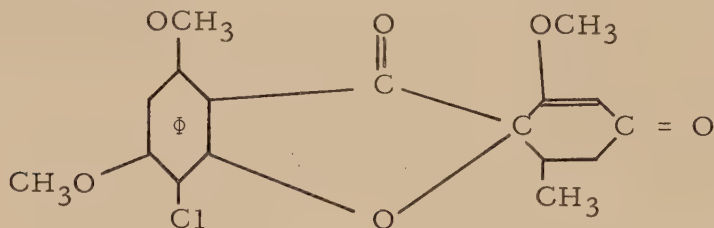
c) Autres antibiotiques antifongiques

D'autres antibiotiques de structures différentes des polyéniques et polyényniques ont montré une bonne activité antifongique (Antimycine, Blastmycine, Actidione et Griséofulvine).

. L'actidione, produite par *Streptomyces griseus*, a aussi été isolée de la culture des filtrats de *Streptomyces noursei*.



. La griséofulvine a été isolée en 1939 d'un jus de culture de *Penicillium griseofulvum*. Utilisé au début en agriculture, cet antibiotique s'est révélé très actif dans les affections provoquées sur la peau, les ongles ou le cuir chevelu par les dermatophytes.



Conclusion :

Apparemment, il semble que l'on possède beaucoup d'armes pour lutter contre les champignons, mais, en pratique, surtout parmi les médicaments anciens, ce sont presque tous des produits assez agressifs ou des antiseptiques généraux. Par ailleurs, les médicaments les plus récents, notamment les antibiotiques, se sont révélés assez toxiques, instables, et d'un emploi très particulier. Etant données les grandes facilités d'adaptation des champignons aux diverses agressions, une guérison définitive est rarement obtenue, et souvent même on voit apparaître des résistances. C'est pourquoi la recherche de nouveaux médicaments antifongiques garde tout son intérêt et nous avons pensé développer des études au niveau de l'acide sorbique.

En effet, si l'acide sorbique n'a jamais été utilisé comme agent thérapeutique, c'est un antifongique employé dans les industries alimentaires et même pour la conservation des préparations pharmaceutiques.

II

GENERALITES

BASES ET PLAN DE NOTRE ETUDE

L'acide sorbique est à l'heure actuelle l'agent conservateur le moins toxique et, comme tel, à peu près le seul autorisé pour la protection des denrées alimentaires dans la majorité des pays.

Ses propriétés antifongiques ont été mises en évidence par WYSS, LUDWIG, JORNER, Mc GOWAN, BRIAN, HEMMING et MONTAGNA, et, depuis, ont été largement utilisées dans le domaine alimentaire. On trouvera dans la bibliographie les références des principaux décrets autorisant l'emploi de l'acide sorbique comme agent conservateur ainsi que les principaux articles se rapportant à son action et à son emploi.

Par contre, l'acide sorbique ne parait pas avoir reçu d'applications dans le domaine thérapeutique.

L'acide sorbique, de formule



a une structure qui l'apparente aux acides gras antifongiques tels que les acides acétique, propionique, caprylique et undécylénique.

Ces trois premiers acides et leurs dérivés ne sont guère utilisés. Cependant, FUSEY a signalé la triacétine comme produit antifongique. Par ailleurs, le caprylate de sodium figure à la Pharmacopée américaine. Mais, de tous les acides gras utilisés comme produits antifongiques, l'acide undécylénique est celui qui a reçu le plus d'applications.

L'acide undécylénique, de formule



provient de la décomposition de l'acide ricinoléique lorsque l'on distille

l'huile de ricin sous pression réduite. C'est surtout sous la forme de sels qu'il est utilisé dans le traitement des différentes dermatomycoses.

- L'undécylénate de calcium ou Décylate



est préparé par double décomposition entre son sel de sodium et une solution de chlorure de calcium. C'est une poudre blanche à odeur rance. Ce sel est insoluble dans l'eau, l'alcool et l'éther.

- L'undécylénate de zinc est commercialisé en association avec l'acide undécylénique et l'undécylénate de calcium sous le nom de Mycodécy. Il est obtenu par double décomposition entre l'undécylénate de sodium et un sel soluble de zinc. Il est efficace dans les épidermo-mycoses, en poudre, pommade ou solution. L'undécylénate de zinc se trouve aussi aux Pharmacopées anglaise et américaine.

L'acide undécylénique et ses sels sont des antifongiques à odeur assez déplaisante. On a essayé d'augmenter leur pouvoir antifongique en faisant des amides (de l'éthanolamine en particulier), mais ceci n'a pas été exploité en Pharmacie.

De nombreux auteurs ont discuté le pouvoir antifongique des acides gras.

Dès 1899, CLARK dosa l'effet inhibiteur des acides gras sur les champignons.

En 1913, KIESEL montra que l'activité fongistatique des acides gras augmentait avec le nombre de carbones (activité optima pour les acides comprenant 11 à 12 atomes de carbone). Il en déduisit que l'acide undécylénique était le plus actif.

Les propionates de sodium et de calcium ont longtemps été ajoutés au pain et aux gateaux comme inhibiteurs des bactéries et des moisissures.

En 1938, PECK et ROSENFELD étudièrent l'effet antifongique des acides gras et de leurs sels sur les dermatophytes et obtinrent des résultats cliniques encourageants avec le propionate de sodium.

En 1945, KEENEY et ses collaborateurs trouvèrent que le caprylate

de sodium était plus actif que l'undécylénate de sodium.

En 1947, OSTER et GOLDEN montrèrent dans des études in vitro que l'acide propionique et l'acide undécylénique étaient faiblement fongistatiques.

Des études cliniques récentes confirmèrent ce point de vue.

En 1948, MITCHELL fit pousser les cultures de *Microsporum audouini*, obtenues à partir de cheveux infectés, dans des milieux contenant des produits comme l'acide caprylique, l'acide propionique et l'acide undécylénique.

En 1945, ROTHMAN et ses collaborateurs observèrent que les cheveux des enfants contenaient seulement une petite fraction des acides gras présents dans les cheveux des adultes. Ces découvertes poussèrent ROTHMAN à proposer la théorie que la dominance des teignes sur les têtes des enfants est due à un manque d'acides gras antifongiques dans leurs cheveux. Cependant, l'ensemble du sébum des cheveux des adultes n'est pas fongistatique et il est difficile de voir comment il peut empêcher l'infection.

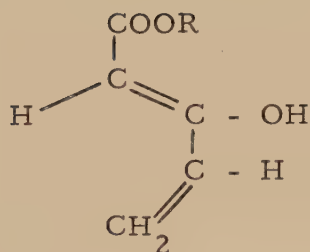
En 1950, KLIGMAN et GINSBERG ont attaqué les bases de cette hypothèse.

Néanmoins, l'action antifongique de certains acides gras ne peut être mise en doute, et les discussions précédentes ne portent que sur l'explication de la plus grande rareté des teignes chez les adultes.

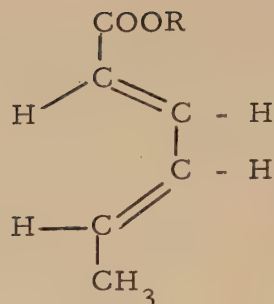
Par contre, dans les formules des antibiotiques antifongiques qui sont les médicaments de choix à l'heure actuelle, (Fongistatine, Nystatine, Pimaricine, ...) on retrouve des structures d'acides gras polyéniques. Aussi pourrait-on considérer l'acide sorbique comme un des premiers termes de ces chaînes qui sont le support de l'activité antifongique.

Les formes esters de polyol et même d'alcanolamine peuvent a priori être intéressantes car, dans la formule des antibiotiques antifongiques, on retrouve toujours une fonction ester d'osamine et des chaînes latérales hydroxylées.

De même, SOLEIL, MARCHAL et LOPPINET ont recherché l'action bactériostatique d'esters acétylacétiques, par analogie structurale avec l'acide salicylique. Remarquons que la forme énolique qu'ils proposent présente une parenté étroite avec la formule générale des sorbates.



Esters acétylacétiques



Sorbates

Par analogie avec tout ceci, il nous a paru intéressant d'étudier pour leurs propriétés antifongiques un certain nombre de dérivés de l'acide sorbique.

Nous consacrerons cependant un chapitre à l'acide sorbique en rappelant ce qui était connu à son sujet et en exposant les précisions que nous avons été amené à apporter pour certains problèmes.

Puis nous passerons aux dérivés de l'acide sorbique.

Dans une première partie, nous exposerons la préparation, les propriétés physiques et chimiques des composés que nous avons étudiés.

L'étude chimique sera divisée en chapitres se rapportant successivement.:

- aux sels minéraux et organiques qui correspondent à une plus ou moins grande ionisation de l'acide sorbique.
- aux dérivés organiques bloquant l'ionisation de la fonction acide (esters, amides, etc ...)

La seconde partie sera consacrée aux essais d'activité antifongique que nous avons effectués. Mais indiquons tout de suite qu'il ne s'agit que d'un travail d'approche avant de livrer nos produits les plus intéressants aux mycologues et pharmacologues spécialistes de ces questions.

Enfin, nous conclurons en essayant de définir les produits qui nous paraissent les plus intéressants du triple point de vue : activité, facilité d'obtention et stabilité.

III

L'ACIDE SORBIQUE

L'acide sorbique est l'isomère trans de l'hexadiénoïque, dont l'acide parasorbique est l'isomère cis cyclisé.

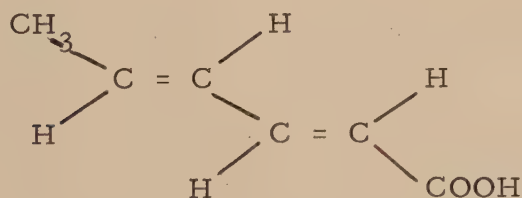
L'acide sorbique a été isolé des sorbes où il se trouve à l'état de traces à côté de l'acide parasorbique. Dès la plus haute antiquité, les sorbes étaient ajoutées aux marmelades d'autres fruits pour en améliorer la conservation.

STRUCTURE :

L'acide sorbique est un monoacide non saturé, ayant deux doubles liaisons conjuguées ; sa formule chimique peut s'écrire ainsi :



En 1931, TOIVONEN, HEINÄNEN et WESTMAN ont déterminé la configuration chimique de l'acide sorbique :

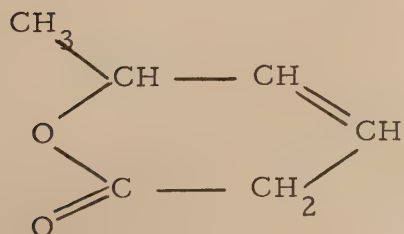


Acide sorbique :

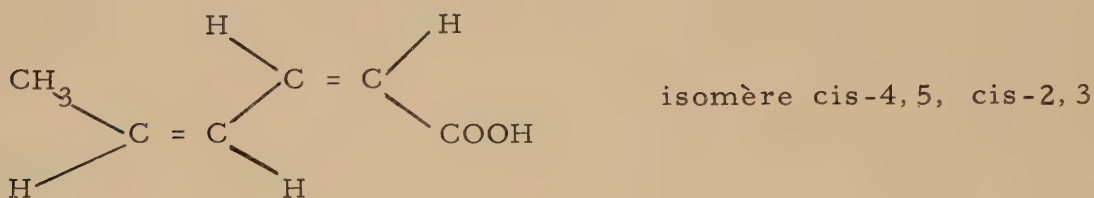
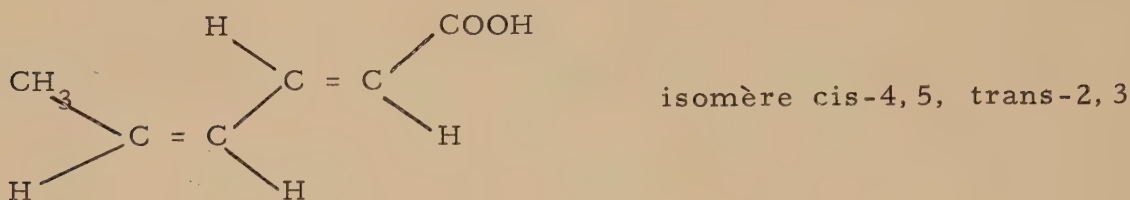
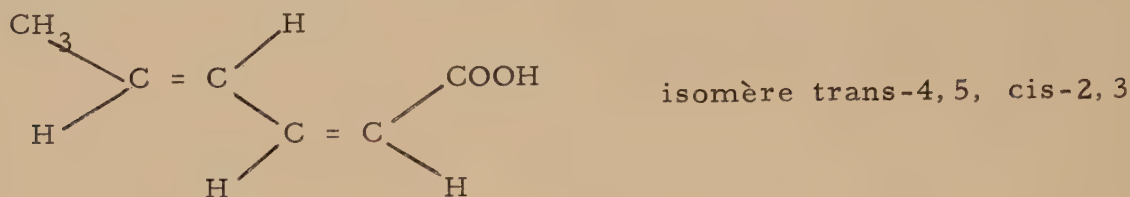
Hexadiène 2,4 trans trans oïque

En 1953, EISNER, ELVIDGE et LINDSTEAD confirmèrent cette structure.

L'acide parasorbique est l'isomère cis cyclisé :

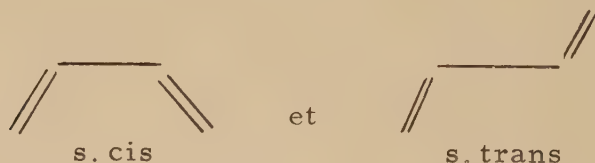


Même en se limitant à la théorie classique, on peut envisager d'autres isomères de l'acide sorbique :



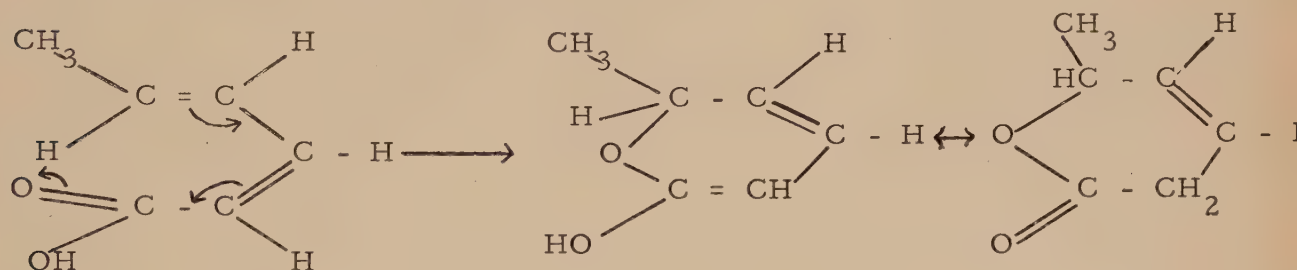
En fait, on sait que, dans une chaîne de doubles liaisons conjuguées, aucune liaison C - C n'est vraiment simple mais présente un certain caractère de double liaison. C'est ainsi que, dans l'acide sorbique, la liaison 3-4 et, à un moindre degré, la liaison 1-2 (si l'on tient compte de la conjugaison C = C - C = O), peut-être même la liaison 5-6 (par effet d'hyperconjugaison), peuvent présenter ce caractère de double liaison.

En 1939-42, MULLIKEN a conclu qu'une conséquence importante de cette coplanéité nécessaire des molécules du type butadiène était la possibilité d'existence d'une isomérisie cis-trans par rapport à la liaison dite "simple" centrale. Pour la distinguer de l'isomérisie cis-trans classique (par rapport à une liaison double), il a nommé cette nouvelle isomérisie s-cis, s-trans. Jusqu'ici, on n'a pas pu isoler chimiquement les deux formes qu'on peut représenter par :



bien que l'on ait accumulé les données expérimentales qui incitent à admettre leur existence effective. Dans le cas qui nous occupe, la situation serait vite compliquée ; mais cette notion est intéressante à souligner car il est possible de considérer que l'acide parasorbique dérive de l'isomère s-cis autour de la liaison (3-4) alors que tous les autres schémas indiqués plus haut correspondent à l'isomère s.trans (3-4).

Les acides sorbiques seraient donc les premiers composés pour lesquels la séparation d'isomères s.cis, s.trans est possible chimiquement ; l'isomère s.cis se lactonise ensuite avec transfert d'un proton. Par contre, seules ces deux formes sont connues et tous les autres isomères n'ont pas été préparés.



En 1941, LONSDALE, ROBERTSON et WOODWARD, ainsi que KUHN et KOHLER firent des recherches optiques et radiographiques sur les cristaux d'acide sorbique. Ils constatèrent que l'acide sorbique cristallisait dans le système monoclinique et indiquèrent les dimensions suivantes pour la maille cristalline :

$$\begin{aligned} a &= 20,00 \text{ \AA} \\ b &= 4,03 \text{ \AA} \\ c &= 15,83 \text{ \AA} \\ \phi &= 102,5^\circ \\ \beta = \gamma &= 90^\circ \\ n &= 8 \end{aligned}$$

PREPARATIONS :

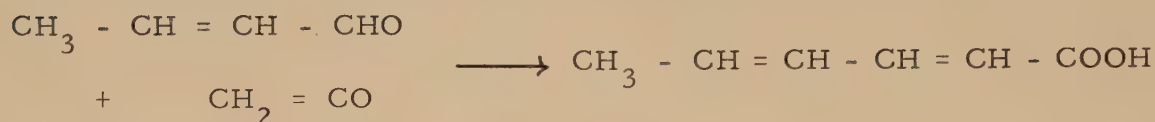
1 - DOEBNER indiqua un mode d'obtention de l'acide sorbique à partir des sorbes.

On neutralise entièrement le jus bouillant de sorbes mûres avec de la craie, on élimine par filtration l'acide malique précipité. On réajuste le pH du filtrat avec du carbonate de soude, on évapore au bain-marie. On fait un entraînement à la vapeur d'eau après addition d'acide sulfurique dilué. On neutralise à nouveau le distillat à l'aide de

carbonate de soude, on évapore au bain-marie et on dilue le résidu avec de l'acide sulfurique dilué (1/1) ; on dissout l'acide parasorbique obtenu dans de l'éther et on évapore cet éther.

Par introduction d'acide chlorhydrique dans la solution alcoolique fraîche de l'acide parasorbique et saponification ultérieure de l'ester éthylique obtenu, ou par court chauffage de l'acide parasorbique avec de la potasse, on obtient l'acide sorbique.

2 - Condensation de l'aldéhyde crotonique avec un cétène.



De nombreuses méthodes de préparation de l'acide sorbique sont basées sur cette réaction. Elles se différencient uniquement par l'emploi de catalyseurs différents, ou par le mode de préparation du cétène.

. La Carbide et Carbon Chemical Corporation prépare l'acide sorbique par traitement de l'aldéhyde crotonique avec un cétène en présence de BF_3 , AlCl_3 , FeCl_3 , B_2O_3 + acide salicylique, B_2O_3 + acide oxalique en solution dans l'éther ou le toluène de -15° à $+15^\circ$ et chauffage ensuite vers 70 à 80° du produit de la réaction avec de l'acide sulfurique à 35 %.

. HAGENEY fait agir l'aldéhyde crotonique sur un cétène en présence de chlorure de zinc, sans solvant, et à une température variant de 50 à 60° . Ensuite, il effectue une distillation du produit de la réaction à différentes pressions.

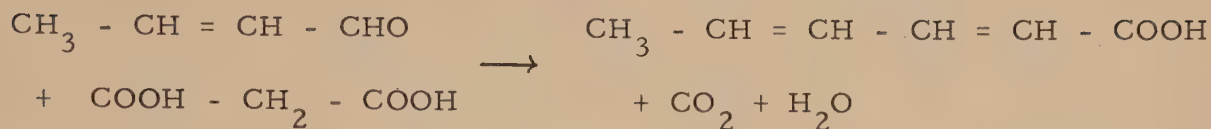
. KOOPAL, VERSTRIGDEN, PESCH et DENUMENS préparent le cétène en faisant passer de l'acétone à travers un tube en quartz chauffé à $250-300^\circ$, puis porté au rouge à 680° . Ensuite, ils refroidissent à 18° pour condenser l'acétone qui n'a pas réagi.

La réaction entre l'aldéhyde crotonique et le cétène est réalisée en faisant passer à travers une colonne de porcelaine le cétène et le crotonaldéhyde en présence d'isovalérianate de zinc et de toluène à la température de 35° .

Les produits de la réaction sont distillés car ils renferment un mélange d'esters des acides sorbique et butyrique plus ou moins hydroxylés.

Ensuite, ces auteurs purifient l'acide sorbique en passant par l'ester éthylique qu'ils saponifient.

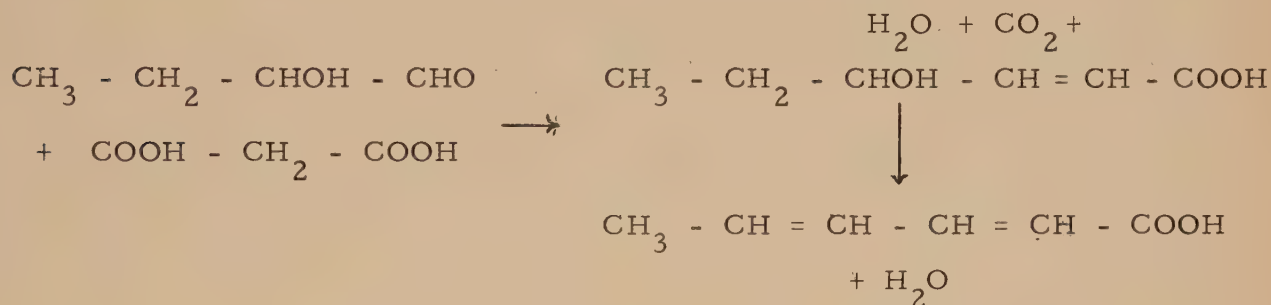
3 - Action de l'aldéhyde crotonique sur l'acide malonique



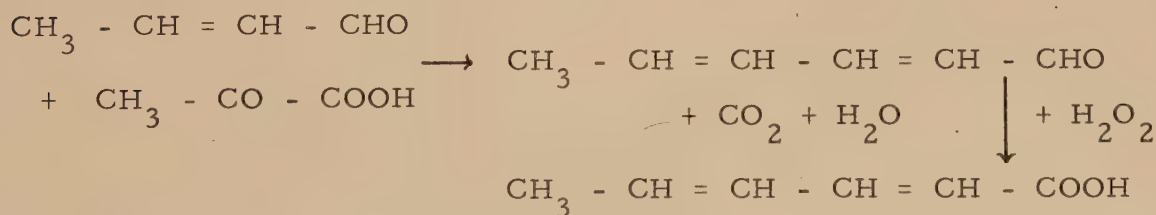
De nombreux auteurs (ALLEN et VON ALLAN, JOLLY et AMIAR, DOEBNER) ont signalé cette méthode pour l'obtention de l'acide sorbique.

Ils chauffaient pendant trois heures 40 g d'aldéhyde crotonique avec 60 g d'acide malonique et 50 g de pyridine.

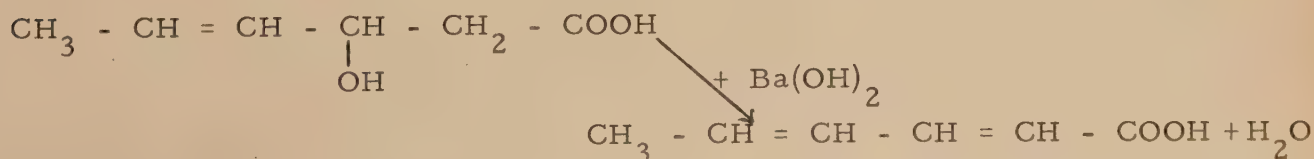
RIEDEL a fait réagir un aldol sur l'acide malonique en solution dans la pyridine.



4 - Condensation de l'acide pyruvique avec l'aldéhyde crotonique en solution faiblement alcaline et oxydation de l'aldéhyde sorbique produit dans la réaction par H_2O_2 et Ag_2O (SMEDLEY, LUBRYNSKA).



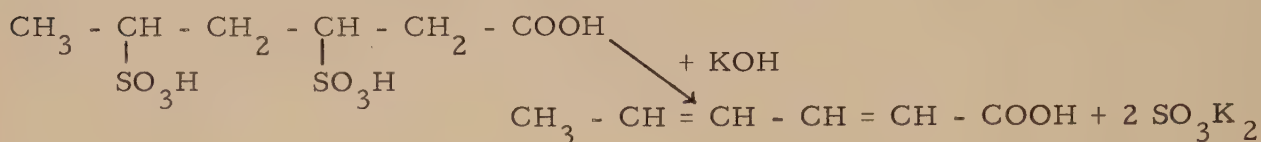
5 - Déshydratation de l'hexène-4 ol-3 oïque par ébullition de 2 heures avec une solution à 30 % d'hydroxyde de baryum.



Par cette méthode, JAWORSKI et REFORMATSKI ont eu un rendement de 95 %.

6 - Déshydrogénation de l'acide capronique.

HOTTBOHN obtint l'acide sorbique en chauffant au bain-marie de l'acide n capronique disulfoné en β et δ avec de la potasse et un peu d'eau.

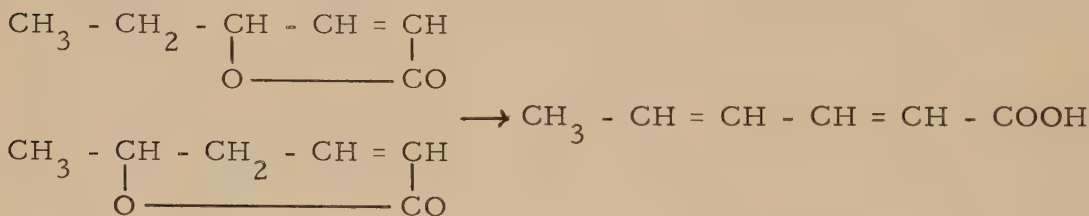


7 - Isomérisation de l'acide parasorbique.

HOFFMANN et DOEBNER ont obtenu de l'acide sorbique par isomérisation de l'acide parasorbique :

. soit par chauffage modéré avec de la potasse ou de l'acide sulfurique concentré,

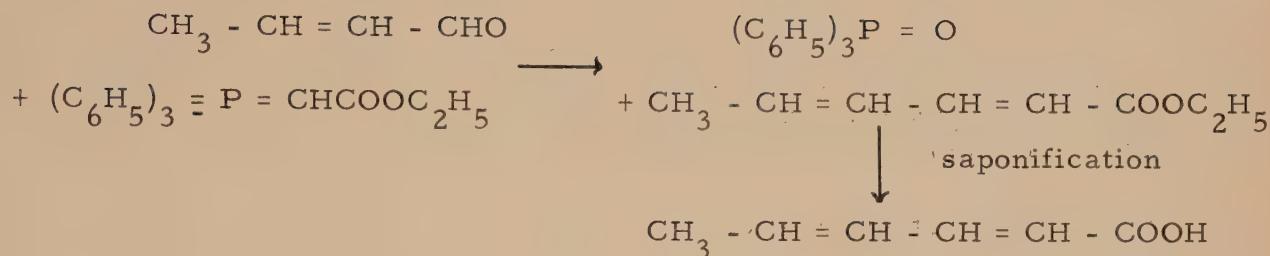
. soit, plus facilement, par introduction d'acide chlorhydrique dans une solution alcoolique d'acide parasorbique et saponification de l'ester éthylique de l'acide sorbique formé.



8 - Réaction de WITTIG.

La réaction de WITTIG est à l'heure actuelle la méthode de choix pour la préparation de l'acide sorbique. Elle consiste à faire réagir sur l'aldéhyde crotonique un organo-phosphoré qui peut être soit le carbéthoxyméthylène de triphénylphosphorane, soit l'éthylacétate phosphonate de diéthyle.

. Par l'intermédiaire du carbéthoxyméthylène triphénylphosphorane. En 1960, KUCHEROV, KOVALEV, NAZAROVA et YANOVSKAYA préparèrent de l'acide sorbique en utilisant la réaction de Wittig au carbéthoxyméthylène triphénylphosphorane en présence d'aldéhyde crotonique. Ils obtinrent tout d'abord le sorbate d'éthyle qui, par saponification par une solution de soude caustique, donne l'acide sorbique avec un rendement de 80 %.



. Par l'intermédiaire de l'éthylacétate phosphonate de diéthyle.
Ce dérivé phosphoré est obtenu par une réaction d'ARBUSZOW entre le phosphate de triéthyle et le monobromacétate d'éthyle ; cette réaction est réalisée avec un très bon rendement.

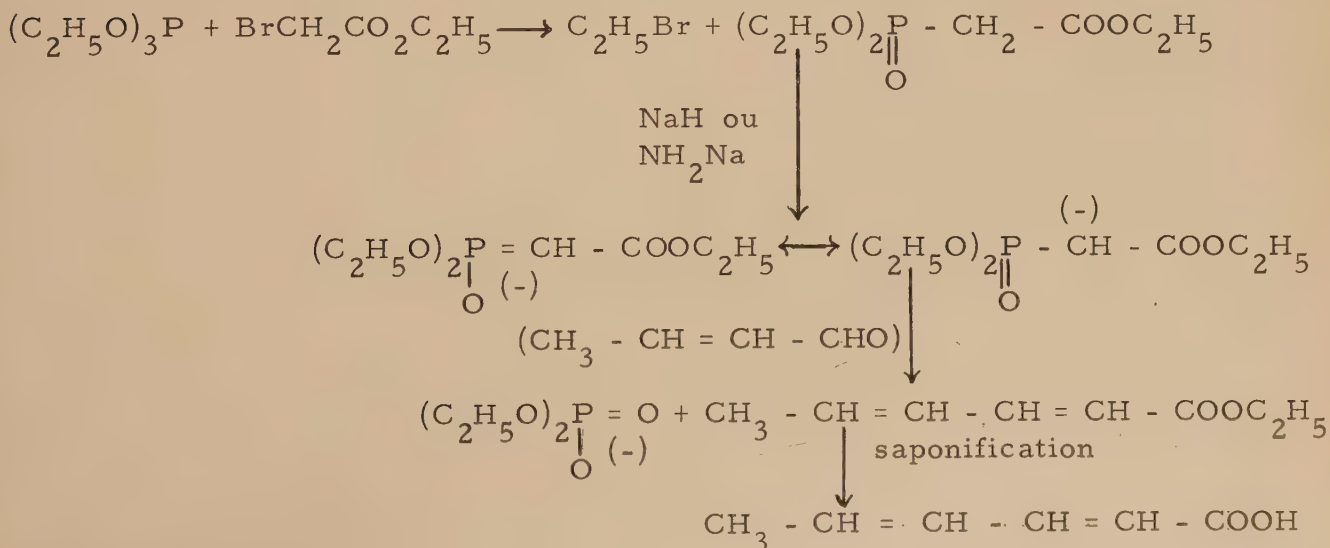
Par une base très forte, le phosphonate est transformé en sa forme anionique qui réagit beaucoup plus rapidement sur l'aldéhyde crotonique.

En 1958, STILZ et POMMER utilisèrent dans ce but l'hydrure de sodium.

En 1962, TAKAHASHI, FUJIWARA et OHTA remplacèrent l'hydrure de sodium par de l'amidure de sodium.

D'autres auteurs comme HORNER, HOFFMANN et WIPPEL employèrent le butylate tertiaire de potassium, mais ce catalyseur semble être moins intéressant car il conduirait à des produits de résinification de l'aldéhyde crotonique.

Cet ensemble de réactions peut s'écrire de la façon suivante :



Le phosphate de diéthyle peut être facilement recyclé car il est soluble dans l'eau.

Dans le cas de la préparation de l'acide sorbique, la méthode à l'éthylacétate phosphonate de diéthyle est préférable à celle au carbéthoxyméthylène triphényl phosphorane.

Cette méthode est utilisée dans l'industrie.

PROPRIETES PHYSIQUES :

Nous avons donné précédemment la formule développée.

Le poids moléculaire est de 112,13.

L'acide sorbique est un solide cristallisé blanc, d'odeur faiblement piquante, stable à la température ordinaire en flacons bien bouchés. Il est entraînable à la vapeur d'eau et fond à une température comprise entre 133 et 135° (NOTTBOHN, THOMAS, SUDBOROUGH). Nous avons trouvé un point de fusion de 134° et, si cette température varie avec certains auteurs, ceci peut provenir du fait que le produit a tendance à se sublimer à une température supérieure à 110°. Il bout à 228° en se décomposant (FITTING et BARRINGER). Sa constante de dissociation à 25° est de $1,73 \cdot 10^{-5}$ (OSTWALD), soit $pK_A = 4,76$.

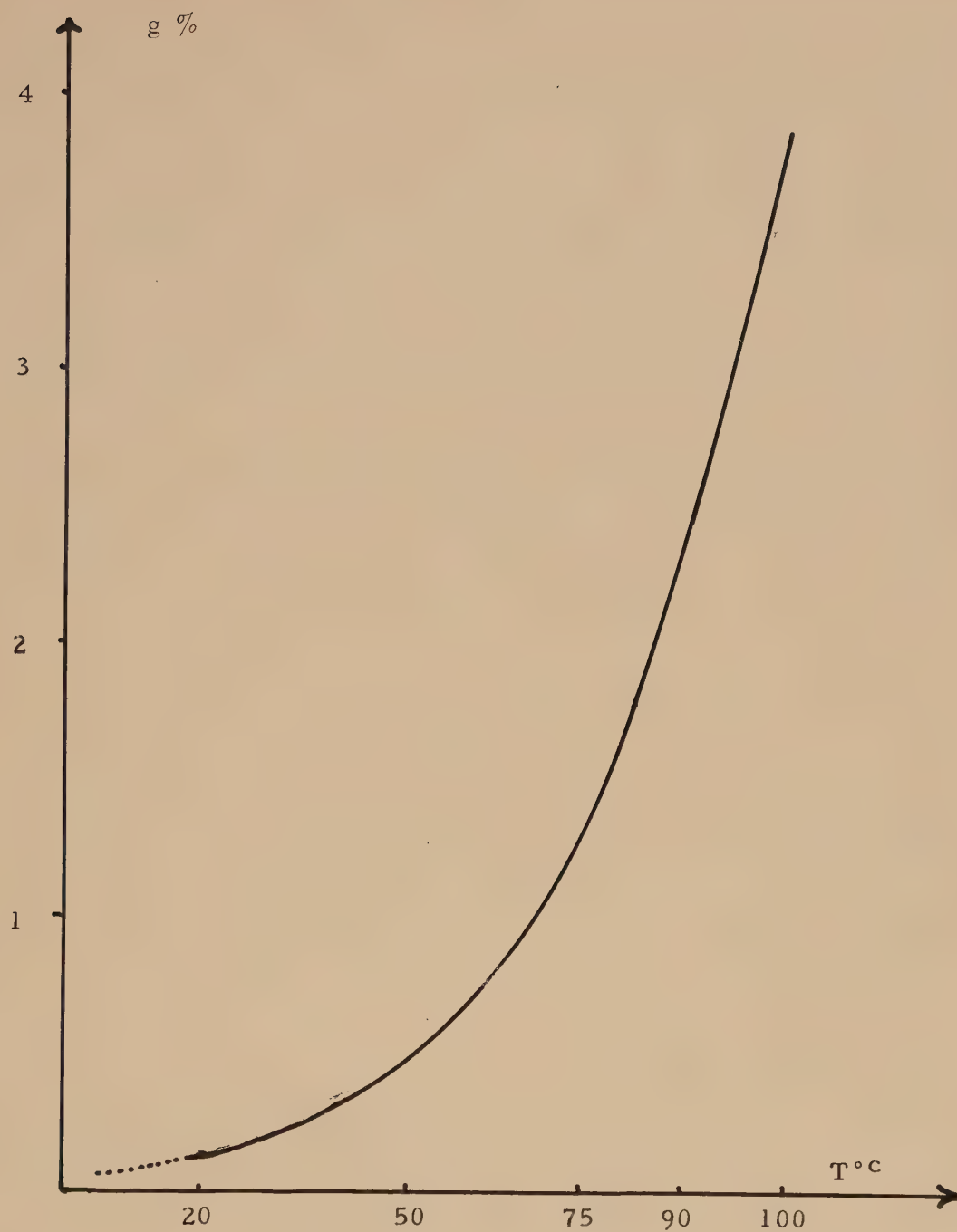
Il est très peu soluble dans l'eau.

Solubilité maximum dans l'eau à 20°	: 0,15 %
50°	: 0,50 %
75°	: 1,30 %
90°	: 2,40 %
100°	: 3,80 %

Nous avons porté tous ces résultats sur une courbe (figure 1).

Solubilité maximum dans différents solvants à 20°.

Alcool éthylique à 95 %	12,6 %
Alcool méthylique	12,9 %
Alcool isopropylique	8,4 %
Acide acétique	11,5 %
Acétone	9,2 %
Benzène	2,3 %
Dioxanne	11,2 %
Ethylène glycol	3,5 %



Solubilité dans l'eau en fonction de la température

Figure 1

Propylène glycol	5,5 %
Glycérol	0,31%
Chlorure de sodium à 5 %	0,10%
Chlorure de sodium à 10 %	0,07%
Chlorure de sodium à 15 %	0,04%
Saccharose à 50 %	0,08%
Huiles végétales et graisses animales	0,5 à 1 %
Toluène	1,90%

LONSDALE, ROBERTSON et WOODWARD étudièrent la susceptibilité magnétique de l'acide sorbique.

HOFFMANN montra que l'acide sorbique cristallise du mélange bouillant de deux volumes d'eau et d'un volume d'alcool en longues aiguilles.

STOCKMANN indiqua comme chaleur de combustion de l'acide sorbique :

743 calories à pression constante
742,8 calories à volume constant

FISCHER et WREDE indiquèrent :

745,9 calories à volume constant.

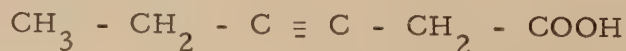
Etude des spectres UV : voir l'étude personnelle faite à propos du dosage spectrophotométrique.

PROPRIETES CHIMIQUES :

L'acide sorbique est un monoacide insaturé avec deux doubles liaisons conjuguées et, comme tel, donne de nombreuses réactions.

1 - Par chauffage :

MARUYAMA, SUZUKI montrèrent que l'acide sorbique se transforme, par chauffage au-dessus de 170° en tube scellé, en présence de potasse alcoolique, en acide hexyne-3.



2 - Par oxydation :

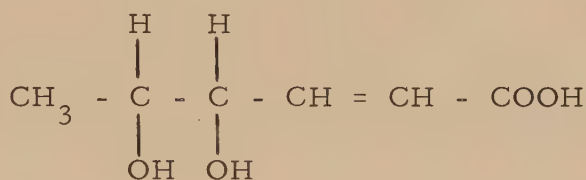
En 1938, HEINÄNEN étudia la vitesse de l'oxydation de l'acide

sorbique ou de son sel d'ammonium en faisant varier de nombreux facteurs.

Il utilisa l'oxygène sans catalyseur ou en présence de sels ferriques, de chlorure de cobalt, de pyridine, en solution dans l'acétone ou le benzène. Ces expériences furent réalisées, soit à la lumière solaire, soit sous irradiation UV, soit à l'obscurité.

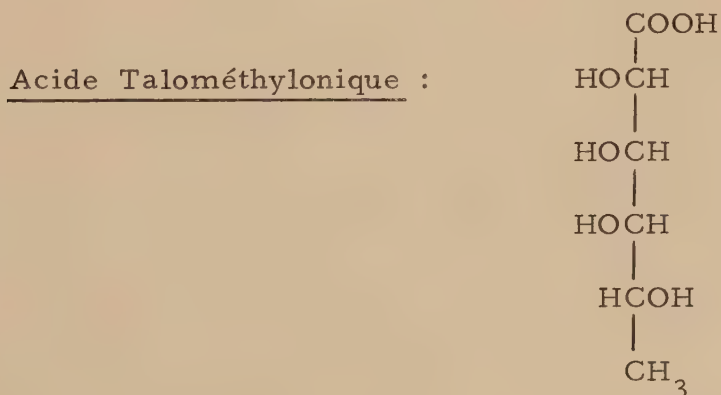
De même, il étudia la vitesse de l'oxydation de l'acide sorbique par l'eau oxygénée dans différentes conditions et indiqua la formation d'acide fumarique.

. En 1940, HAMADA a montré qu'en présence d'acide peracétique, à l'obscurité et à la température ambiante, on obtenait au bout du 6ème jour l'érythro dihydroxy-4,5 hexène trans-2 oïque et de l'acide fumarique.



La production d'acide fumarique augmenterait avec le temps d'oxydation.

. De même, HAMADA et HUZITA constatèrent que l'acide sorbique est oxydé par le chlorate de baryum et l'acide osmique, en 7 jours, à la température de 25 à 30°. Ils isolèrent la lactone talométhylonique qui bout à 127-128° et son ester méthylique qui bout à 137-138°.



. DOEBNER indiqua que l'acide sorbique est oxydé par le permanganate de potassium en solution neutre, à une température inférieure à 4°, en acide tartrique racémique, acide oxalique, acétaldéhyde et CO₂.

. KEVIN, GROWLEY, mirent en évidence la formation photochimique d'allènes. En irradiant une solution à 3 % d'acide sorbique dans l'éther (1 heure d'irradiation par gramme), puis en distillant, ils obtinrent 20 % d'hexadiène-3,4 oïque, c'est-à-dire l'acide allénique :



Par contre, aucun produit du type allénique ne fut obtenu par irradiation d'une solution aqueuse de sorbate de potassium.

L'irradiation d'une solution de sorbate de méthyle à 1 % dans l'éther contenant 10 % d'acide formique donna 8 % d'ester méthylique de l'hexadiène-3,4 oïque.

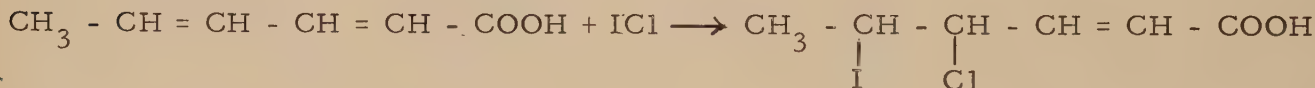
3 - Par réduction :

De nombreux auteurs étudièrent la réduction de l'acide sorbique, soit par réduction électrolytique (ISAACS, WILSON), soit par différents catalyseurs d'hydrogénation (FARMER, GALLEY, HUGUES, INGOLD). Ils obtinrent surtout de l'acide capronique et, suivant l'avancement des réductions, l'hexène-2 oïque et l'hexène-3 oïque.

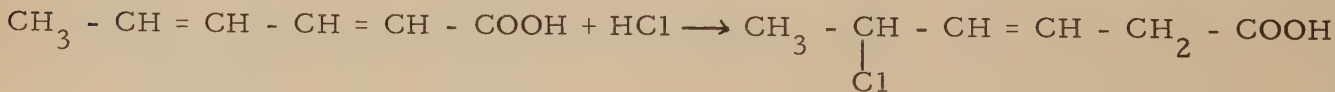
4 - Par halogénéation :

L'acide sorbique étant un acide à deux doubles liaisons conjuguées, les halogènes se fixent d'abord en 4-5, puis en 2-3.

. INGOLD, PRITCHARD et SMITH indiquèrent en 1934 que l'acide sorbique donne avec le chlorure d'iode, en solution dans l'acide acétique, le chloro-4, iodo-5, hexène-2 oïque.



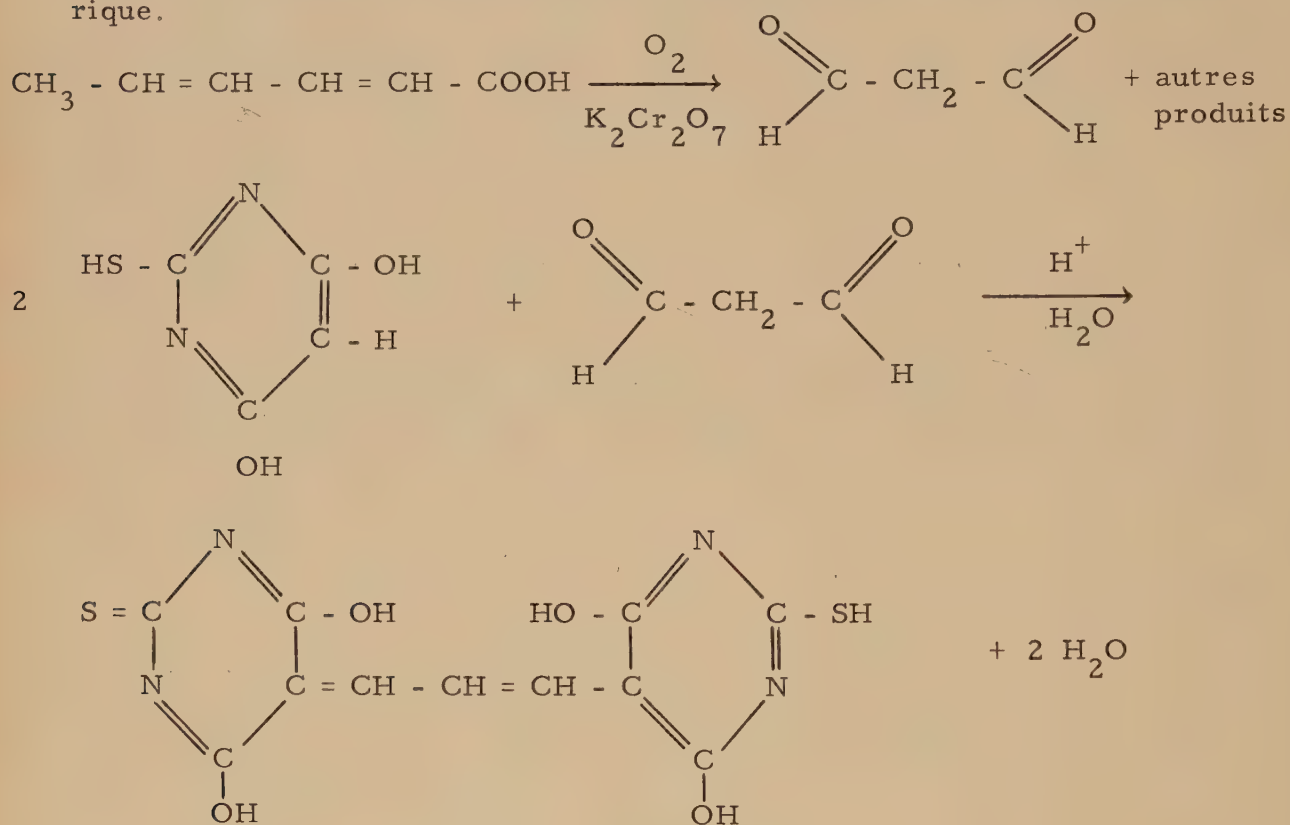
Avec l'acide chlorhydrique ou l'acide bromhydrique, ils obtinrent le chloro ou le bromo-5 hexène-3 oïque.



. En 1932, BLOOMFIELD et FARMER, par introduction d'acide hypochloreux en solution aqueuse dans une solution étherée d'acide sorbique maintenue à la température de -5°, obtinrent comme principal produit le chloro-5 hydroxy-4 hexène-2 oïque et un mélange d'une lactone dérivant de l'acide précédent avec un produit impur res-

. NURY et BOLIN mirent au point une méthode de dosage colorimétrique basée sur l'oxydation de l'acide sorbique par l'acide sulfochromique en aldéhyde malonique ; celui-ci réagit avec l'acide thiobarbiturique pour donner une coloration rouge qui est mesurée au spectrophotomètre à 530 mμ.

En 1958, SINNHUBER indiqua le processus de la réaction d'oxydation de l'acide sorbique et la copulation avec l'acide thiobarbiturique.



Nous avons essayé cette méthode de dosage pour l'acide sorbique, le sorbate de potassium et les sorbates minéraux. Elle donne de bons résultats à condition de faire une courbe d'étalonnage avec chaque série de produits. En effet, on ne peut pas comparer la coloration donnée par l'acide sorbique d'un sorbate de zinc à celle obtenue avec du sorbate de potassium ou de l'acide sorbique.

Ceci confirme que l'on connaît mal le processus d'oxydation en dialdéhyde malonique ; la réaction ne paraît pas reproductible quand on change les conditions opératoires ; elle ne serait jamais quantitative, d'où la nécessité de faire un étalonnage précis dans chaque cas particulier et de respecter ensuite le mode opératoire déterminé.

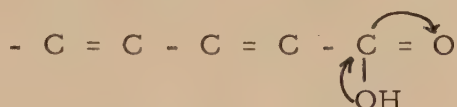
Par ailleurs, cette méthode présente un inconvénient car l'on est

obligé, à chaque série de dosages, de refaire le réactif à l'acide thiobarbiturique qui ne se conserve que six heures.

Aussi, avons-nous préféré utiliser pour doser l'acide sorbique la spectroscopie d'absorption U.V. qui est plus rapide et donne de très bons résultats. En effet, l'acide sorbique présente un maximum d'absorption pour une longueur d'onde de 2550 à 2650 Å° suivant le pH de la solution.

Etude des spectres UV de l'acide sorbique :

Par suite de sa structure diénoïque totalement conjuguée, l'acide sorbique absorbe fortement dans l'ultraviolet ; cependant, le maximum a lieu pour une longueur d'onde plus courte que pour une diénone analogue puisque la résonance abaisse l'affinité électronique du groupe



carbonyle et, par suite, son aptitude à agir comme accepteur dans les transferts électroniques, le long de la chaîne d'électrons mobiles. Cet effet est encore plus accentué pour l'ion carboxylate correspondant puisque la résonance est plus grande entre les deux formes mésomères identiques.



Il en résulte que le spectre ultraviolet en solution aqueuse (ou ionisante plus généralement) dépendra du pH.

Comme la spectrophotométrie ultraviolette est une méthode analytique commode de dosage, nous avons tenu à préciser les spectres ultraviolets de l'acide sorbique dans diverses conditions de pH.

50 mg d'acide sorbique ont été dissous dans 100 ml d'alcool et 1 ml de cette solution mère a été dilué à 100 ml avec de l'acide chlorhydrique ou de la soude non carbonatée pour réaliser toute la gamme de pH d'environ 1 à environ 14, et les spectres ont été tracés en plaçant le milieu solvant sur la voie référence. Le pH de chaque solution étudiée a été mesuré simultanément.

Au cours de nos premières expériences, la force ionique de la solution était variable, aussi les avons-nous répétées en diluant cette

fois l'acide sorbique dans des mélanges tampons maintenus à force ionique constante (0,20) avec du perchlorate de sodium. Ces mesures de contrôle montrent que les variations de force ionique ne jouent pratiquement pas (à pH constant).

L'examen des spectres indique (figure 2) :

- qu'en milieu fortement acide, où la forme non dissociée est prépondérante, sinon unique, l'acide sorbique présente un maximum d'absorption entre 2650 et 2640 Å° avec un coefficient d'absorption moléculaire :

$$\epsilon = 26.275 \pm 250$$

- qu'en milieu fortement alcalin, ce maximum se déplace à 2560 - 2550 Å° avec une légère diminution de l'intensité d'absorption :

$$\epsilon = 25.600 \pm 250$$

Simultanément apparaît, du côté des courtes longueurs d'onde, une seconde bande, dont le maximum se situe entre 2250 et 2300 Å° et correspond à une absorption plus faible que le pic principal. Ce spectre à deux bandes correspond à l'ion sorbate, qui, dans ces conditions de pH, représente presque tout l'acide sorbique présent.

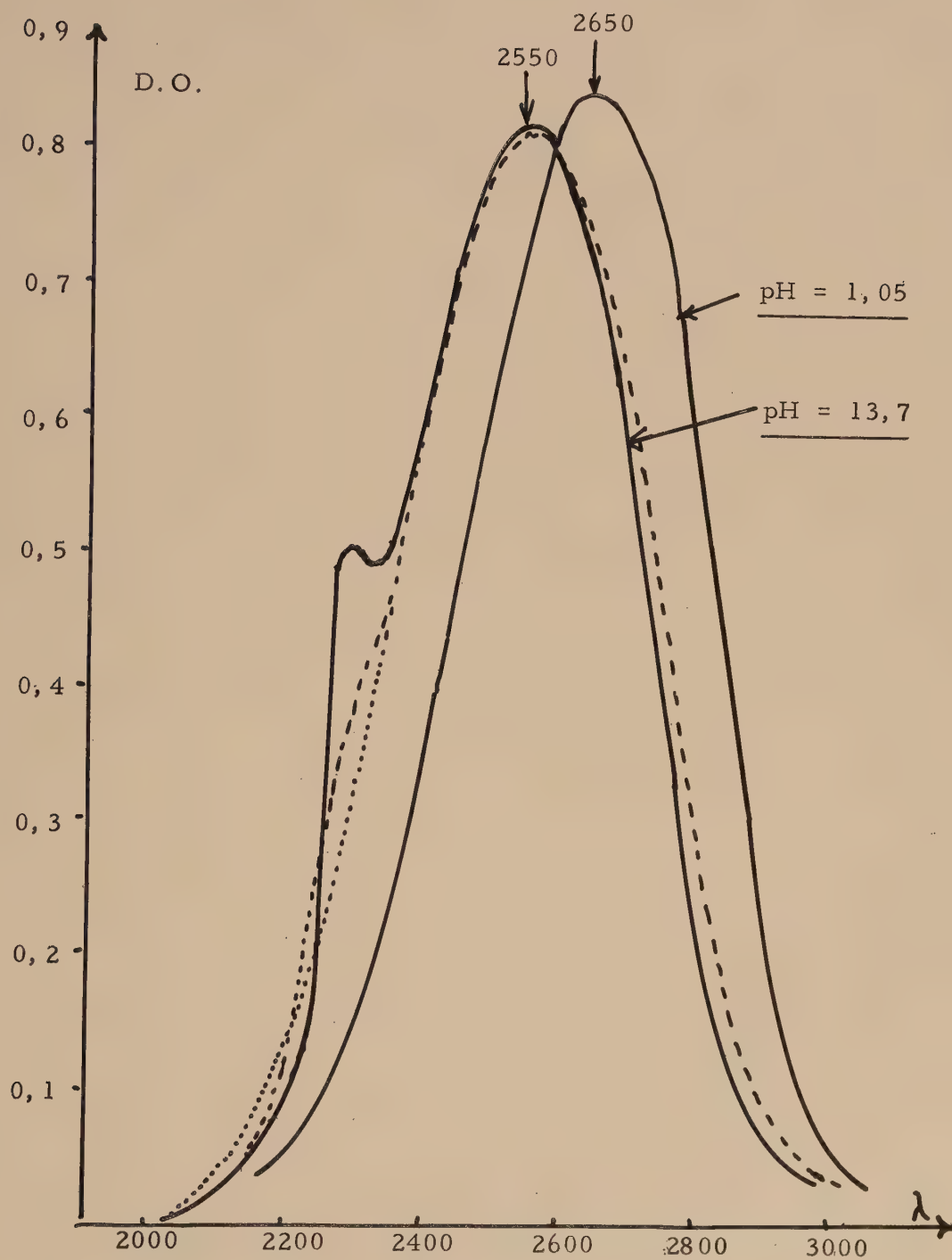
- que, pour les pH intermédiaires, on a évidemment les spectres des mélanges correspondant à l'équilibre d'ionisation. Tous ces spectres se coupent en un point isobestique à la longueur d'onde 2585 - 2590 Å° pour laquelle les deux formes (non dissociée et ionique) ont le même coefficient d'absorption moléculaire ϵ , d'ailleurs très voisin de celui correspondant aux maxima :

$$\epsilon = 25.400 \pm 250$$

Si l'on porte sur un graphique la longueur d'onde du maximum principal d'absorption en fonction du pH (tableau 1), on obtient une courbe en S représentée sur la figure 3.

A partir de cette figure, on peut déduire le pK_a de l'acide. Nous avons trouvé ici une valeur voisine de 4,6 - 4,7, bien en accord avec celle déterminée à partir des courbes potentiométriques de neutralisation ($pK_a = 4,76$).

L'existence du point isobestique très près des maxima d'absorption des deux formes (acide non dissocié - ion sorbate) avec un coefficient d'absorption très voisin de ceux correspondant à ces maxima, est un



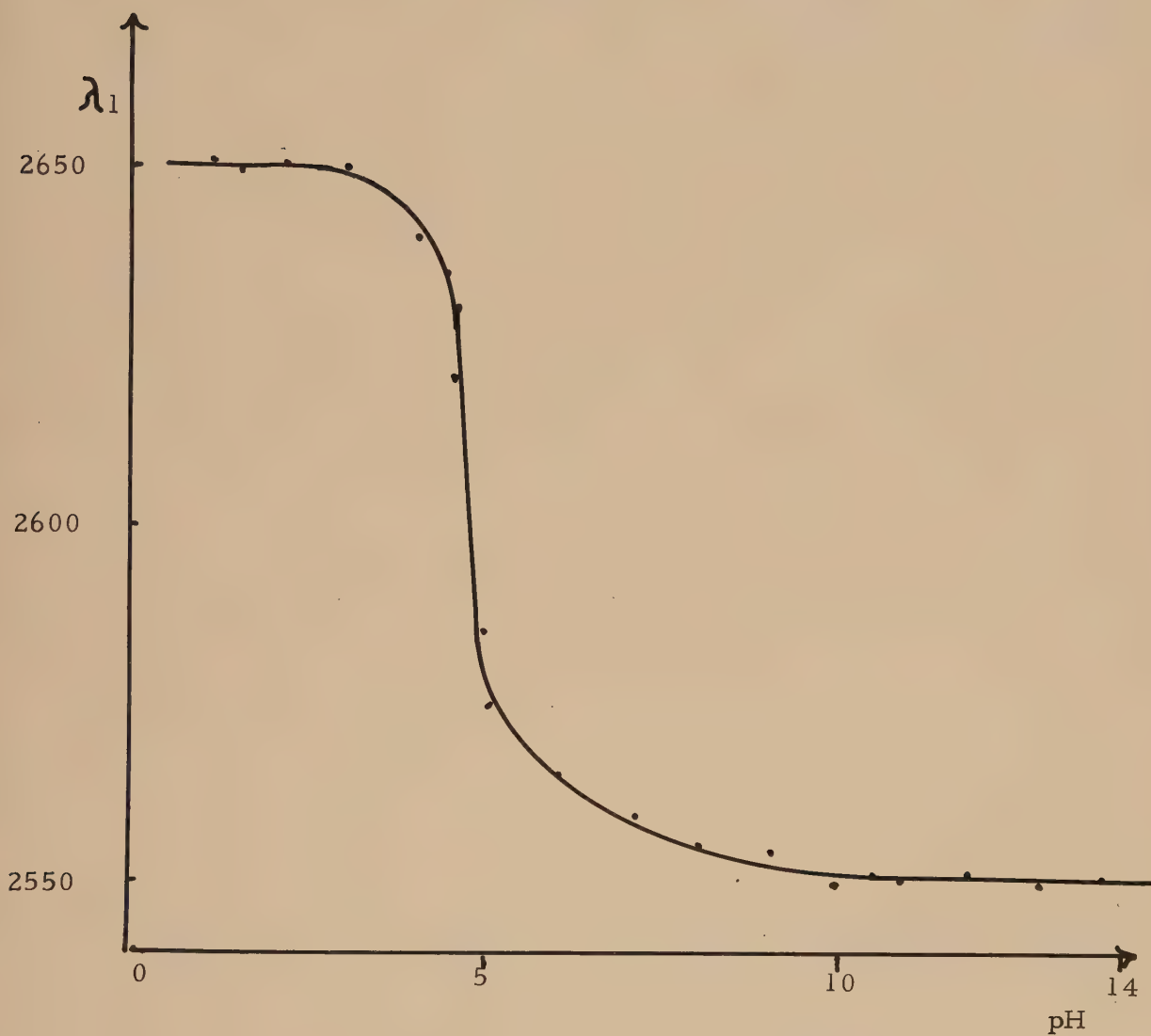
Variations extrêmes
du Spectre ultraviolet en fonction du pH (1-13)

Figure 2

Tableau 1

pH	λ_1	λ_2
13,7	2290	2550
12,6	2250	2550
11,85	2200)	2550
10,90	2150) épaulement	2550
10,0		2550
9,0		2555
8,0		2555
7,15		2560
6,00		2565
5,08		2575
4,40		2635
4,00		2640
3,05		2650
2,02		2650
1,05		2650

Influence du pH sur le spectre ultraviolet de l'acide sorbique.



Variation de la longueur d'onde
du maximum d'absorption en fonction du pH

Figure 3

gros avantage pour le dosage spectrophotométrique. En effet, même si l'on ne dissout pas l'acide sorbique dans un tampon, ou tout au moins si l'on ne se place pas rigoureusement dans les mêmes conditions de pH, en effectuant la lecture à 2585-2590 Å°, on aura le même coefficient d'absorption quel que soit ce pH.

Cependant, il est souvent plus pratique de tracer le spectre de la solution sorbique au voisinage de 2500-2700 Å° et de prendre l'intensité au maximum, sans chercher à pointer exactement les longueurs d'onde. L'erreur que l'on risque de commettre ainsi ne dépasse pas 2 %.

Pour un dosage plus précis, il faut tenir compte des remarques précédentes, mais la loi de Beer n'est vraiment respectée que pour des densités inférieures à 0,65 environ ; au-delà, la courbe d'étalonnage s'incurve légèrement et il est préférable de s'y rapporter au cours des dosages de l'acide sorbique ou de l'ion sorbate (figure 4).

METABOLISME :

En 1937, COHEN constata que la formation de corps cétoniques augmentait dans le foie après absorption d'acide sorbique.

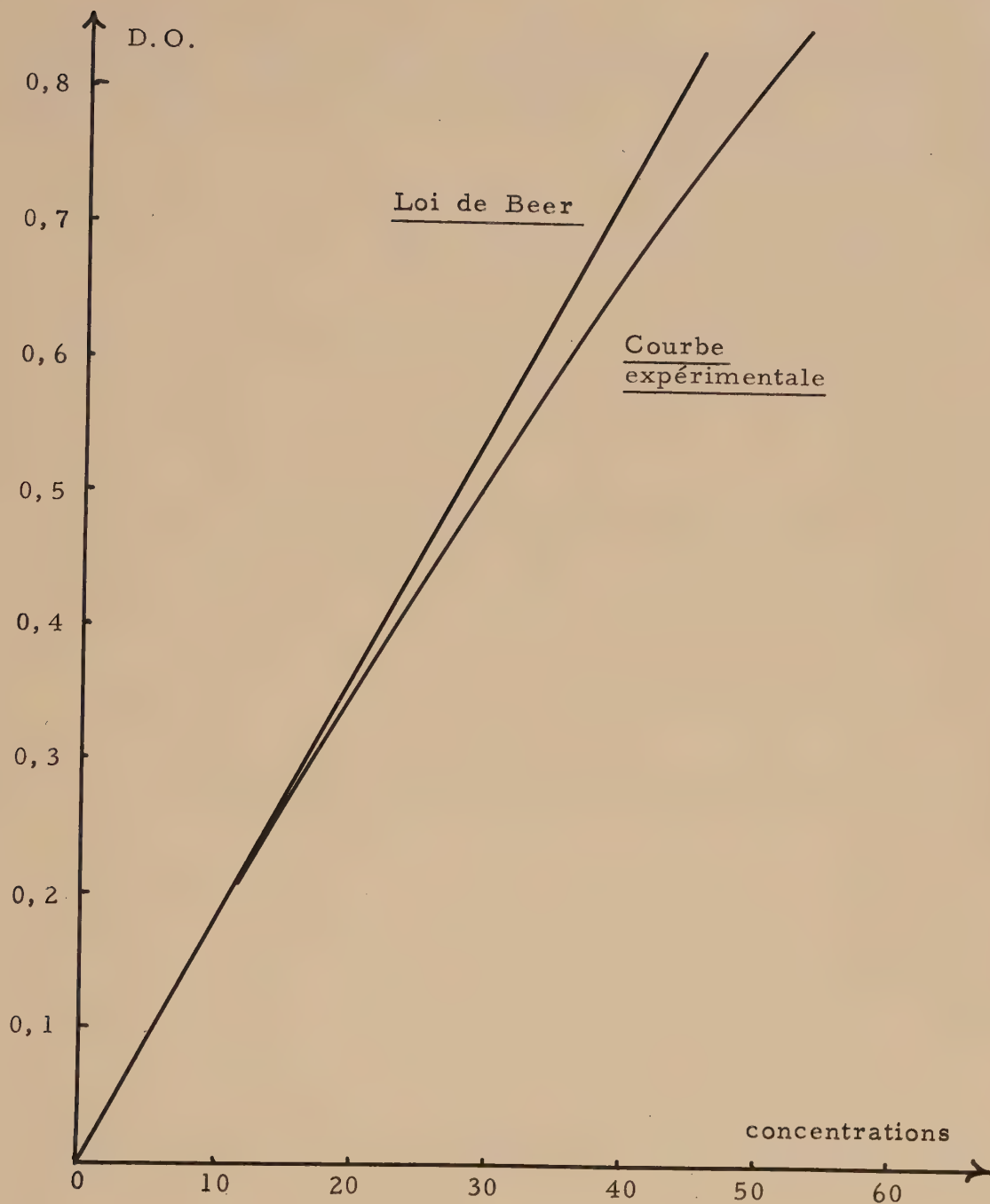
En même temps, KUHN et KÖHLER firent des expériences sur des chiens et remarquèrent qu'après consommation d'acide sorbique avec la nourriture, on trouvait dans l'urine de faibles quantités d'acide trans trans muconique.

En 1954, DEUEL, CALBERT, ANISFELD, McKEEHAN et BLUNDEN ainsi que FINGERHUT, SCHMIDT, LANG en 1962 montrèrent que l'acide sorbique, dans des conditions normales d'alimentation, est complètement oxydé sous l'action de diastases en anhydride carbonique et eau avec libération d'énergie thermique ; aussi l'acide sorbique joue-t-il pratiquement un rôle d'aliment énergétique.

TOXICOLOGIE :

L'acide sorbique est pratiquement non toxique. Il s'est avéré sans danger pour des rats et des chiens, même incorporé à la dose de 5 % dans leur nourriture.

DEMARREE, SJOGREN, Mc GASHLAND et COSGROVE ont montré que l'acide sorbique absorbé pendant 4 mois à la dose de 8 % par de jeunes rats, provenant de parents eux-mêmes traités pendant 4 mois à la même dose, est inoffensif.



Dosage spectrophotométrique de l'acide sorbique

Figure 4

On a même remarqué chez certains sujets de légères augmentations de vitesse de croissance, alors qu'avec le benzoate de sodium, utilisé dans les mêmes conditions, on note des retards de croissance et des altérations du foie et des reins.

La DL 50 sur des rats par voie orale montre que l'acide sorbique est moins toxique que le benzoate de sodium.

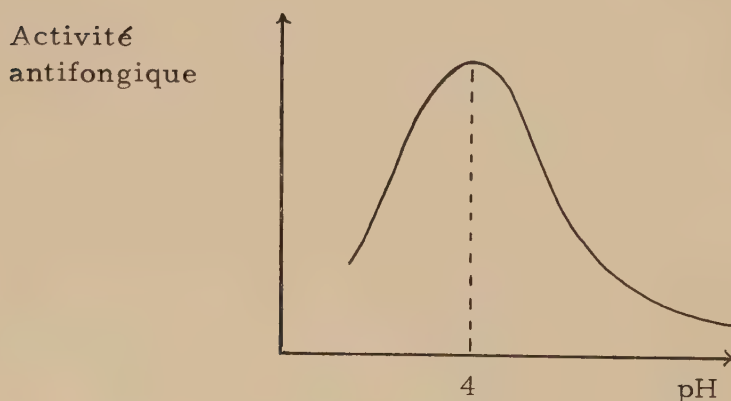
- Acide sorbique 10,5 g/Kg
- Benzoate de sodium 2 à 3,4 g/Kg (exprimé en ac. benzoïque)

CONCLUSION :

L'acide sorbique utilisé comme conservateur des denrées alimentaires, s'est montré d'une façon générale plus fongistatique que fongicide. L'expérience montre que les propriétés antifongiques de l'acide sorbique dépendent du pH du milieu ; ceci peut s'interpréter :

- d'une part par une ionisation plus ou moins avancée qui est défavorable à l'action antifongique.

- d'autre part par une solubilité de l'acide non dissocié qui diminue en même temps que le pH descend en dessous de $\text{pH} = 4$.



Il semble donc que l'action antifongique puisse être attribuée à la structure de l'acide non dissocié. Il en est de même d'ailleurs pour l'acide benzoïque.

IV

LES DERIVES DE L'ACIDE SORBIQUE

Nous avons vu que l'activité antifongique de l'acide sorbique était liée à la réaction acide ou alcaline du milieu, passant par un maximum pour un pH faiblement acide (pH voisin de 4). Cette constatation nous a amené à admettre que l'acide sorbique non dissocié était plus antifongique que l'ion sorbate.

A l'appui de cette hypothèse vient également une théorie fréquemment admise : la perméabilité des parois cellulaires et des téguments est plus grande pour les molécules organiques non ionisées que pour les ions organiques, principalement les anions.

Parmi les dérivés de l'acide sorbique que nous avons préparés, figurent cependant des sels. Il s'agit d'abord des sels de zinc, aluminium et cuivre, car on peut espérer que le caractère ionique de ces sels est nettement moins marqué que pour les sels alcalins et que, par suite, leur hydrolyse donnera une réaction du milieu nettement moins alcaline que celle d'un sorbate de potassium ou de sodium ; en conséquence, l'activité antifongique devrait être améliorée. C'est d'ailleurs ce que revendiquait récemment un brevet HOECHST à propos du sorbate de calcium, alors que notre travail était déjà commencé.

Ensuite, nous avons préparé des sels d'alcanolammoniums, comptant sur la tensioactivité marquée de ces produits pour accroître l'efficacité antifongique.

Les dérivés de l'acide sorbique que nous présentons ensuite sont des dérivés purement organiques ; nous avons d'abord conservé le radical sorboyle intact en préparant divers esters, amides, etc ...

Enfin, nous avons cherché à modifier légèrement le radical sorboyle.

Nous préciserons et développerons les idées directrices qui nous ont conduit à ces recherches pour chaque groupe de ces dérivés de l'acide sorbique en introduction des chapitres correspondants.

PREMIERE PARTIE

PREPARATIONS ET ETUDE CHIMIQUE DES DERIVES DE

L'ACIDE SORBIQUE

CHAPITRE I

Les Sels de l'Acide Sorbique

Parmi les sels de l'acide sorbique, les sorbates de potassium et plus récemment de calcium sont commercialisés. Nous en ferons une étude rapide, ainsi que du sel de sodium, ne serait-ce que pour pouvoir établir une comparaison avec les autres sels que nous avons préparés.

Ceux-ci peuvent être scindés en deux groupes :

- Les sels de zinc, aluminium et cuivre qui correspondent à des hydroxydes métalliques, très faiblement basiques.
- Les sels d'alcanolammoniums.

Nous avons envisagé les premiers pour des raisons à la fois pharmacologiques et chimiques.

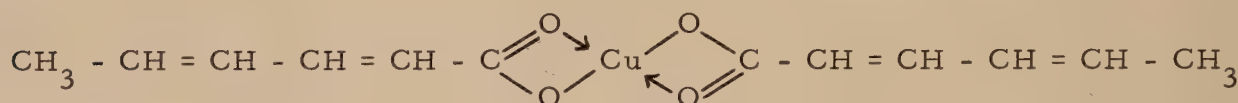
On connaît les propriétés antiseptiques du cuivre et du zinc ; de plus, l'oxyde de zinc et les sels d'aluminium exercent également une action bénéfique sur certaines dermatoses. On pouvait donc espérer une synergie favorable entre l'acide sorbique et ces métaux. De telles associations sont fréquentes et, parmi elles, on peut citer l'octoate cuivreux de ROUSSEL-UCLAF, l'undécylénate de zinc inscrit à la Pharmacopée anglaise, et divers sels neutres ou basiques d'aluminium.

Nous avons pensé que, dans notre cas particulier, ces associations pharmacodynamiques risquaient d'être particulièrement intéressantes. En effet, dans les "sels" correspondants, l'acide sorbique devrait être moins ionisé que dans les sorbates alcalins ou alcalino-terreux. Dans toute une série de travaux, AMIEL et ses élèves ont montré que le cuivre des alcanooates cuivriques était dissimulé au point de vue paramagnétisme.

Mme VERGNEAU a confirmé le fait et a suivi son évolution dans la série des diacides en fonction de leur aptitude stéréochimique à constituer un complexe cyclique.

PLOQUIN a cherché l'origine de ce phénomène et l'a attribué au passage du métal dans un complexe non électrolyte par suite d'une trop faible différence entre le pK_a de l'acide considéré et le pH_p du métal (seuil de pH à partir duquel le métal précipite à l'état d'hydroxyde ou de sel basique). Simultanément, la couleur des sels de cuivre évolue du bleu au turquoise et au vert lorsque le degré de complexation augmente et que l'ionisation diminue.

Le sorbate de cuivre devrait donc présenter une structure non ionisée et être fortement antifongique.



Les sels de zinc et d'aluminium n'ont pas été étudiés par les auteurs précédents. En effet, ils ne présentent pas de propriétés paramagnétiques et sont incolores ; aussi les méthodes employées par AMIEL et ses élèves n'étaient-elles plus applicables.

Cependant, si l'on généralise les conclusions de PLOQUIN, à savoir qu'en l'absence d'empêchement stérique, un acide donnera un dérivé métallique d'autant moins ionique que sa force (mesurée en pK_a) sera plus voisine du pH de précipitation de l'hydroxyde métallique correspondant, on peut s'attendre à ce que les sorbates de zinc et d'aluminium soient également des complexes analogues au sorbate de cuivre.

En effet, $\text{Zn}(\text{OH})_2$ et $\text{Al}(\text{OH})_3$ précipitent respectivement à partir de $pH_p(\text{Zn})$ voisin de 5 et $pH_p(\text{Al})$ voisin de 6, et le pK_a de l'acide sorbique est : 4,76.

Notons toutefois que les savons d'aluminium connus sont très mal définis (KIRK - OTHMER).

Les sorbates d'alcanolammoniums ont été préparés en partant du fait que les savons correspondants sont d'excellents agents tensioactifs. Ils sont solubles dans l'eau et de nombreux solvants organiques. On peut donc attendre des propriétés semblables pour les sorbates, bien que la chaîne carbonée soit réduite à 6 atomes de carbone, et, par suite, espérer avoir une excellente pénétration dans les applications locales.

A) Les Sorbates minéraux

1 - Les Sorbates alcalins

. Le Sorbate de potassium est commercialisé comme conservateur antifongique des denrées alimentaires ; il présente à ce point de vue sensiblement les mêmes qualités que l'acide sorbique. Il s'en distingue par sa grande solubilité dans l'eau.

Solubilité maximum à 20° dans l'eau :

(Sorbate de potassium :	58, 20 %
(Acide sorbique :	0, 15 %

Le sorbate de potassium est utilisé comme conservateur antifongique en œnologie, brasserie, pâtisserie, fromagerie.

Cependant, comme l'action antifongique est maximum en milieu acide (pH voisin de 3 à 4), il est probable que le sorbate de potassium n'agit qu'après hydrolyse du sel alcalin et que la seule partie active est l'acide non dissocié. Le seul bénéfice de l'emploi du sel de potassium serait donc d'ordre pratique, par suite de sa facile dissolution dans l'eau.

. Le Sorbate de sodium : Nous l'avons préparé dans le même ordre d'idées par neutralisation de l'acide sorbique par la soude jusqu'à pH compris entre 7 et 8, et cristallisation. Disons tout de suite qu'au point de vue antifongique, ce sel ne présente aucun avantage sur le sel de potassium. Il a par contre le même inconvénient d'être assez rapidement altéré à la lumière. Les solutions jaunissent rapidement ainsi que les sels cristallisés s'ils ne sont pas parfaitement secs. Même en flacons bruns et bien bouchés, les sorbates alcalins se conservent mal et, en quelques mois, présentent un aspect plus ou moins brun avec des amas noirâtres par endroits.

2 - Le Sorbate de Calcium est commercialisé depuis 1964. Les promoteurs de ce conservateur justifient l'emploi du sorbate de calcium de préférence aux sorbates alcalins et à l'acide sorbique par la faible solubilité du sel de calcium à la fois dans l'eau et les huiles. Nous l'avons préparé au début de 1963.

a) par double décomposition entre des solutions de chlorure de calcium et de sorbate de sodium. Après une heure de contact, onessore et lave le précipité jusqu'à élimination des chlorures. Puis, le produit est séché sous vide à la température du laboratoire.

b) Par action de l'acide sorbique sur un lait de chaux à neutralité, essorage et séchage.

On obtient une poudre blanche dont la solubilité dans l'eau est de 1,20 %, au lieu de 20 % pour le sorbate de sodium et de 58 % pour le sorbate de potassium. La solubilité du sorbate de calcium dans l'eau n'augmente guère à 100° ; nous avons trouvé 1,35 %. Par ailleurs, sa solubilité dans l'alcool n'est que de 0,025 %.

Le poids moléculaire du sorbate de calcium précipité et séché sous vide, calculé par rapport à l'acide sorbique retrouvé dans sa molécule, est de 263,5. Le poids moléculaire théorique du sorbate de calcium anhydre est 262. Nous adopterons donc cette formule :



Le calcium, qui a été dosé par complexométrie, a confirmé cette formule.

Au point de vue stabilité, ce produit semble nettement supérieur aux sorbates alcalins. Le sorbate de calcium, préparé au laboratoire et conservé sans précautions spéciales, ne semble pas s'être altéré au bout de 3 ans.

Le dosage de l'acide sorbique dans les sels de Na, K, et Ca ne présente pas de difficultés spéciales par spectrophotométrie. Aux dilutions utilisées, les solutions aqueuses sont parfaitement limpides et il suffit de tenir compte du pH de ces solutions par rapport aux solutions d'acide sorbique étalon (voir discussion des spectres UV en fonction du pH).

Dans ces sels, la liaison du métal à l'acide sorbique est purement ionique.

3 - Les Sorbates de Zinc, Aluminium et Cuivre

Comme nous nous y attendions, les sorbates de zinc, d'aluminium et de cuivre nous ont posé quelques problèmes.

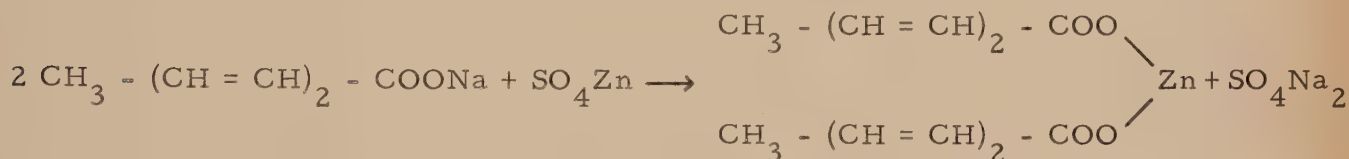
Nous avons vu en effet que la structure, et l'existence même des savons de ces métaux, d'une façon générale sont très discutées.

Nous avons essayé de les préparer par double décomposition entre

les sorbates alcalins et des solutions de sulfate de zinc, d'aluminium ou de cuivre, en s'inspirant de la méthode indiquée pour l'undécylénate de zinc dans British Pharmaceutical Codex 1963, p. 898 et dans British Pharmacopea 1963, p. 888.

a) Sorbate de zinc

Préparation : Nous avons d'abord préparé le sorbate de zinc en faisant agir sur le sorbate de sodium une solution de sulfate de zinc.



On prépare une mole de sorbate de sodium en neutralisant jusqu'à pH voisin de 7,5 de l'acide sorbique par une solution de soude 3 N. Par ailleurs, on dissout 1/2 mole de sulfate de zinc, 7 H₂O dans 200 ml d'eau. Cette solution a un pH de l'ordre de 3,5.

Le sorbate de sodium étant toujours agité mécaniquement, on y verse lentement la solution de sulfate de zinc. Il se forme un précipité blanc abondant que nous avons appelé "sorbate de zinc". On agite pendant 1/2 heure et on laisse en contact 2 heures à l'obscurité. On lave à l'eau distillée pour éliminer le sulfate de sodium ; on essore et on sèche sous vide.

Suivant le mode opératoire précédent, le rendement par rapport au zinc et par rapport à l'acide sorbique est voisin de 72 % seulement, et ce sont cependant les meilleures conditions expérimentales que nous ayons pu déterminer.

En effet, avec les mêmes concentrations et les mêmes quantités d'eaux de lavage, le temps de réaction ne joue pratiquement pas. Les rendements après 2 heures, 6 heures, 12 heures et 24 heures de contact sont respectivement de 72 %, 71 %, 67 % et 71 % en précipité sec.

Des solutions initiales plus diluées fournissent un milieu plus facile à agiter et un précipité plus facile à laver, mais le rendement en "sorbate de zinc" tombe rapidement autour de 50 %.

Avec des solutions plus concentrées au départ, l'agitation en cours de réaction devient impossible, le milieu reste plus ou moins hétérogène et le lavage est très difficile.

On peut expliquer le rendement de l'opération par une solubilité dans l'eau du "sorbate de zinc" voisine de 0,85 % ; en effet, compte tenu du volume des eaux de lavage et de leur concentration, on calcule un poids théorique de précipité sec voisin de celui réellement obtenu. En fait, en suivant quantitativement l'élimination du zinc et de l'acide sorbique dans les filtrats, on constate une solubilité plus grande du "sorbate de zinc" juste précipité que du "sorbate de zinc" sec ; de plus, l'acide sorbique et le zinc ne s'éliminent pas de la même façon ; en particulier, le rapport Acide sorbique/zinc n'est pas constant et n'est égal à sa valeur théorique 2 qu'à un moment donné du lavage.

En opérant sur 1/4 de mole de sorbate de sodium et 1/8 de mole de sulfate de zinc, après un temps de contact de 2 heures, les dosages de zinc et d'acide sorbique dans les eaux de lavage donnent les valeurs suivantes :

Fraction	Volume en ml	Zinc en g	Acide sorbique en g	Rapport moléculaire Acide sorbique/Zinc
1er filtrat	600	1,29	4,76	2,157
2ème filtrat	240	0,34	1,64	2,815
3ème filtrat	265	0,36	1,73	2,80
Total	1105	1,99	8,13	2,38

Si tout le zinc était à l'état de sorbate de zinc neutre et anhydre, les concentrations en sorbate de zinc calculées par rapport à l'acide sorbique seraient :

1,017 % dans le 1er filtrat
0,876 % dans le 2ème filtrat
0,836 % dans le 3ème filtrat

Mais le rapport moléculaire Acide sorbique/zinc passe de 2,16 à 2,80 alors que la valeur théorique pour le sorbate de zinc neutre et anhydre est de 2.

Donc, on a moins de zinc et davantage d'acide sorbique par rapport au sorbate neutre de zinc, au fur et à mesure qu'on lave.

On peut expliquer ceci par une légère hydrolyse et on n'a pas intérêt, pour obtenir un produit pur, à prolonger le contact du précipité avec les eaux de lavage ni à augmenter le volume de ces eaux au delà de ce qui est nécessaire pour éliminer les sulfates.

Cette hydrolyse n'est cependant pas décelable par les seuls dosages du zinc et de l'acide sorbique dans le précipité sec ; on trouve en effet un rapport moléculaire Acide sorbique/zinc égal à 1,978 au lieu de 2,00. La pureté du produit recueilli paraît donc satisfaisante. Cependant, ce résultat peut être fortuit si l'on a affaire à un mélange convenable de sorbates neutre, basique, et acide, de zinc.

Cette variation dans la solubilité ou l'apparence d'une réaction incomplète nous a conduit à expérimenter avec des temps de réaction différents.

Avec les mêmes concentrations initiales et des lavages identiques, mais un temps de contact de 6 heures, les dosages du zinc et de l'acide sorbique donnent :

Fraction	Volume en ml	Zinc en g	Ac.Sorbique en g	Rapport moléculaire Ac. Sorbique / Zinc
1er filtrat	600	1,30	4,64	2,08
2ème filtrat	225	0,32	1,56	2,84
3ème filtrat	265	0,35	1,71	2,84
Total	1090	1,97	7,91	2,34

Ces résultats sont sensiblement les mêmes que ceux obtenus avec un temps de contact de 2 heures.

Dans une troisième préparation, avec un temps de contact de 12 heures et une légère augmentation du volume des eaux des derniers lavages, nous avons :

Fraction	Volume en ml	Zinc en g	Ac.Sorbique en g	Rapport moléculaire Ac. Sorbique / Zinc
1er filtrat	570	1,10	4,75	2,518
2ème filtrat	325	0,47	2,09	2,59
3ème filtrat	300	0,43	1,81	2,45
Total	1195	2,00	8,65	2,52

En moyenne, l'hydrolyse est un peu plus prononcée et répartie plus uniformément.

En diminuant le volume des eaux de lavage, mais avec un temps de contact de 24 heures avant la première filtration, nous avons trouvé :

Fraction	Volume en ml	Zinc en g	Ac. sorbique en g	Rapport moléculaire Ac. Sorbique / Zinc
1er filtrat	455	1,25	3,72	1,738
2ème filtrat	165	0,29	1,32	2,65
3ème filtrat	225	0,34	1,52	2,61
Total	845	1,88	6,56	2,03

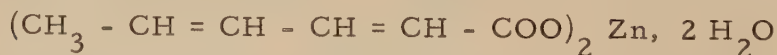
Ici, il y a au départ un excès de zinc en solution par rapport à l'acide sorbique entraîné malgré la durée de contact de 24 heures. Puis, dans les eaux de lavage, on constate une hydrolyse du même ordre que précédemment.

Les précipités, une fois séchés, ont été analysés.

Précipité correspond à	Poids de Zn en g dans le précipité	Ac. sorbique en g dans le précipité	Poids de précipité recueilli	Rapport moléculaire Ac. sorbique Zn	PM trouvé à partir du Zn	PM trouvé à partir de l'acide sorbique
2 h	5,81	19,71	29	1,979	326	329
6 h	5,64	19,76	28,5	2,044	330	323
12 h	5,40	18,72	27	2,023	327	323
24 h	5,70	20,03	28,5	2,050	327	319

Le rapport moléculaire Acide sorbique/zinc a dans tous les cas des valeurs satisfaisantes et voisines de 2,00, valeur théorique de ce rapport.

Les poids moléculaires trouvés sont de $327,5 \pm 2,5$ (à partir du dosage du zinc) et $323,5 \pm 5,5$ à partir du dosage de l'acide sorbique. Le poids moléculaire théorique pour un sorbate de zinc neutre cristallisé à 2 molécules d'eau étant de 323,4, nous avons pensé adopter cette formule pour le produit précipité et séché à la température ambiante sous vide.



Cependant, lorsque nous avons repris l'étude de la solubilité du produit, nous ne sommes pas arrivé à dissoudre correctement ce "sorbate de zinc" dans les proportions que nous avons admises au cours de ses préparations et les dosages de zinc et d'acide sorbique étaient absolu-

ment incohérents. Nous avons donc repris l'étude de la préparation en suivant de plus près la séparation du zinc et de l'acide sorbique. Nous avons travaillé sur des solutions initiales 2 fois plus concentrées, mais il a fallu multiplier les lavages. Nous avons donc mis en présence :

1/2 mole de sorbate de sodium pH voisin de 7,5
1/4 mole de sulfate de zinc pH voisin de 3,5

Agitation 1/2 heure, contact 1 heure, essorage, lavage.

Fraction	Volume d'eau en ml	Zn trouvé dans la fraction	Total du Zn trouvé	Acide sorb. trouvé	Total Acide sorb. trouvé	Rapport mol. Ac.sorb. Zn	Zn calculé d'après Acide sorb. trouvé	Acide sorb. calculé d'après Zn trouvé
Essorage	270	1,156	1,156	1,68	1,68	0,847	0,49	3,96
Lavage 1	270	0,777	1,933	2,16	3,84	1,62	0,63	2,66
Lavage 2	250	0,499	2,432	1,71	5,55	1,99	0,50	1,71
Lavage 3	280	0,434	2,866	1,68	7,23	2,25	0,49	1,49
Lavage 4	370	0,514	3,380	1,94	9,17	2,20	0,56	1,76
Lavage 5	290	0,390	3,770	1,55	10,72	2,31	0,46	1,33
Total	1730	3,770		10,72		1,658		

Si l'on porte les nombres correspondants pour le zinc et pour l'acide sorbique éliminés en fonction du volume d'eaux de lavage recueillies, on obtient les courbes de la figure 5.

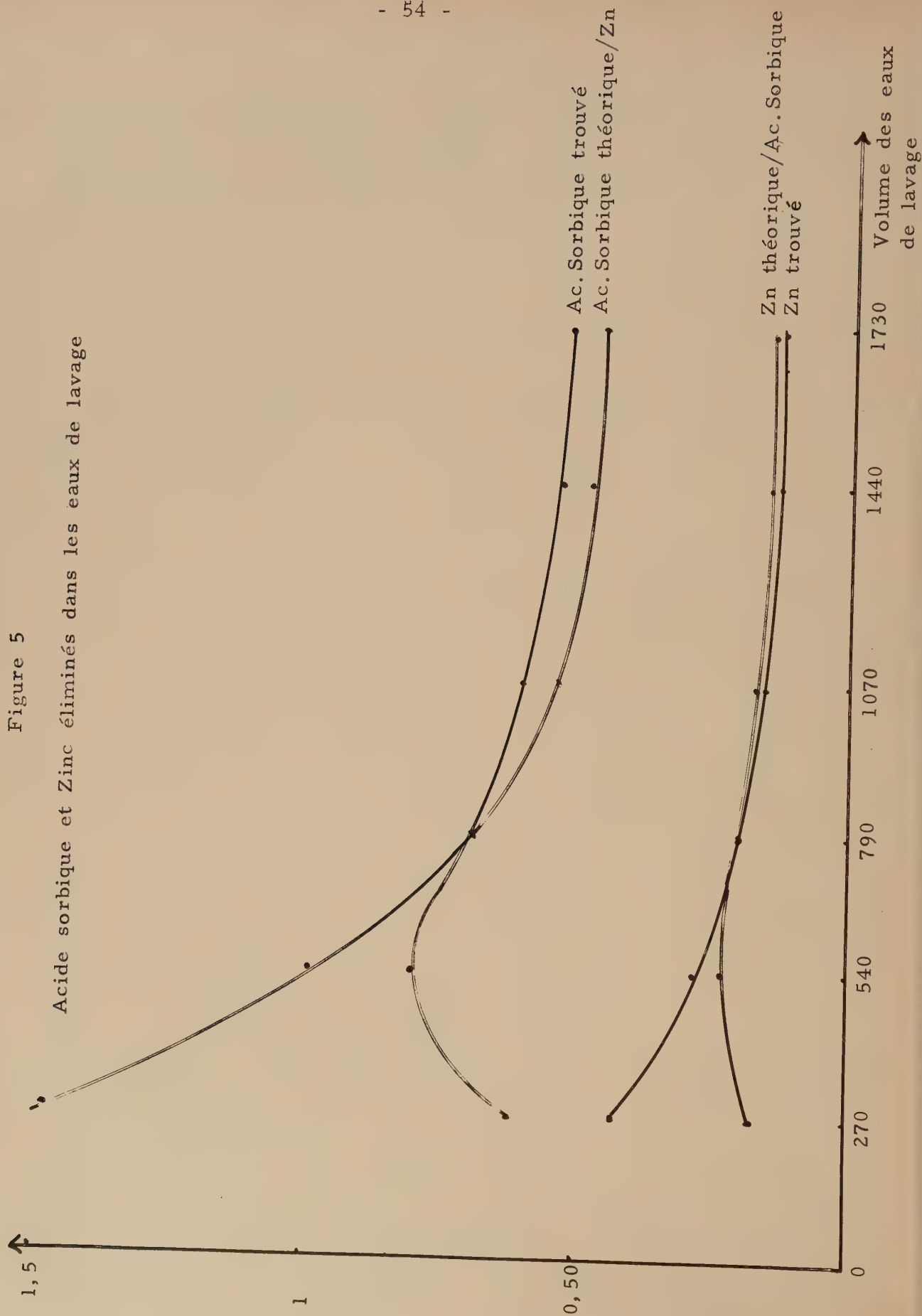
Ces courbes peuvent être comparées à ce que nous avons appelé la courbe du "zinc théorique" par rapport à l'acide sorbique entraîné pour un sorbate neutre (ou à la courbe de "l'acide sorbique théorique" par rapport au zinc présent dans les eaux-mères) (figure 5).

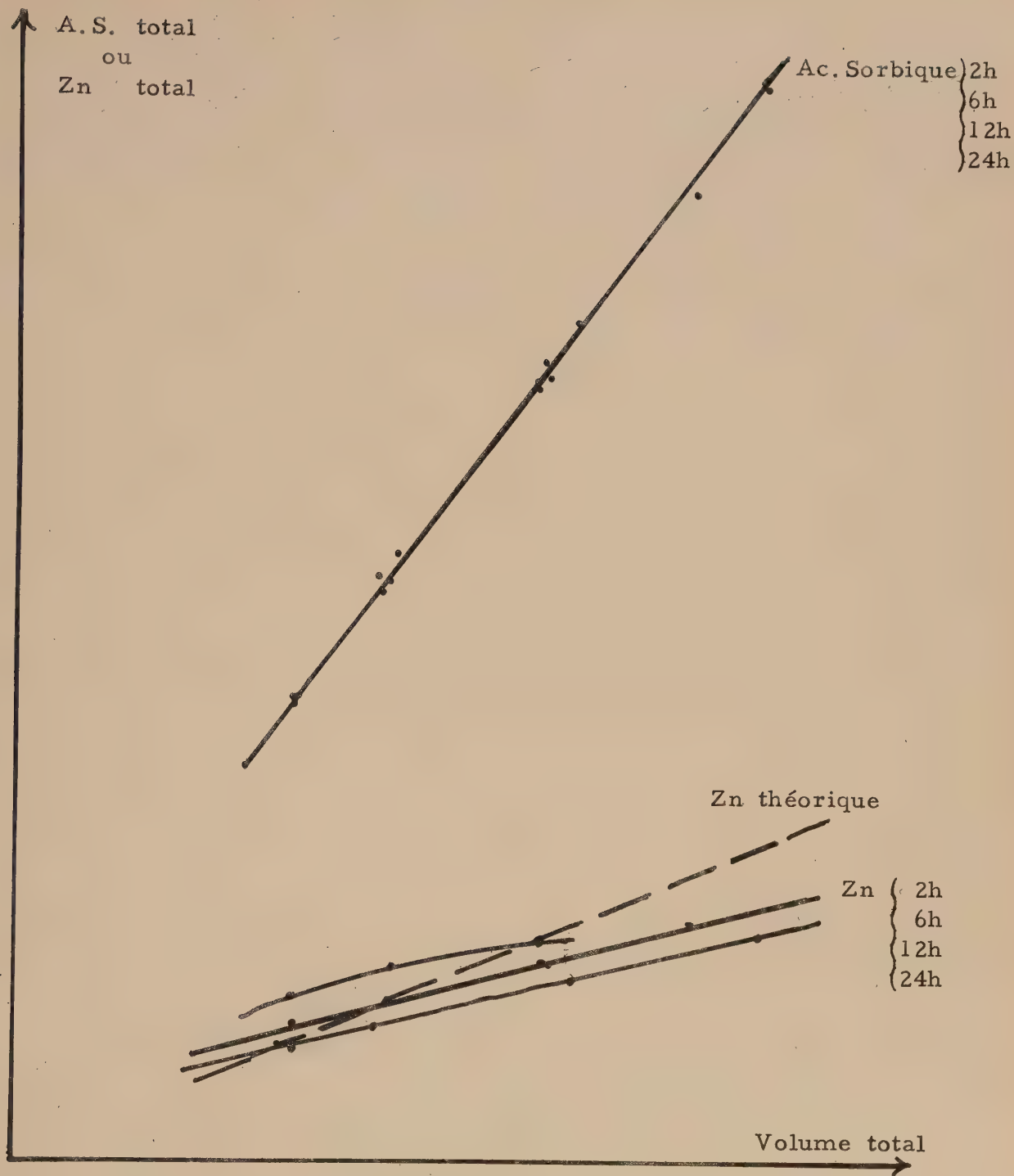
On voit qu'au début on entraîne trop de zinc, soit que la réaction ait été incomplète, soit que l'influence des ions SO_4^{--} encore présents suffisent à solubiliser le zinc. Cette dernière hypothèse est plus vraisemblable puisque nous retrouvons le même phénomène sur les courbes tracées à partir des premières expériences avec 2h, 6h, 12 h et 24 heures de contact (figure 6).

De ce fait, il reste donc, dans le précipité de sorbate de zinc, de l'acide sorbique en excès que les lavages ultérieurs ont bien du mal

Figure 5

Acide sorbique et Zinc éliminés dans les eaux de lavage





Elimination de l'Acide Sorbique et du Zinc
dans les eaux de lavage

Figure 6

à enlever. On peut penser que cette difficulté provient de ce qu'il y a en même temps dissolution du sorbate de zinc et de l'acide sorbique en excès et que tout cela se met en équilibre hydrolytique avec, le cas échéant, précipitation d'oxyde de zinc (qui ne réagit pas sur l'acide sorbique à l'état solide dans ces conditions).

Supposons d'abord que le sorbate de zinc ne s'hydrolyse pas. A chacun des lavages, au delà du 3ème, (par environ 300 ml d'eau), on entraîne en moyenne 0,390 g de zinc, sous forme de sorbate de zinc, soit :

$$\frac{0,390 \text{ g} \times 224}{65,40} = 1,34 \text{ g d'acide sorbique combiné.}$$

Comme on a dosé 1,55 g d'acide sorbique total, ce lavage n'entraîne donc que : $1,55 \text{ g} - 1,34 \text{ g} = 0,21 \text{ g}$ d'acide sorbique libre.

Or, au départ, à l'essorage, on a éliminé 1,156 g de zinc qui correspondrait à :

$$\frac{1,156 \text{ g} \times 224}{65,40} = 3,96 \text{ g d'acide sorbique, dont seulement } 1,68 \text{ g ont été retrouvés. Donc, dans le précipité, il y a en trop :}$$

$$3,96 \text{ g} - 1,68 \text{ g} = 2,28 \text{ g d'acide sorbique.}$$

De même, dans le premier lavage, on aurait dû, d'après le zinc éliminé, faire disparaître :

$$\frac{0,777 \text{ g} \times 224}{65,40} = 2,66 \text{ g d'acide sorbique, et non les } 2,16 \text{ g mesurés.}$$

Donc, on a encore dans le précipité :

$$2,66 \text{ g} - 2,16 \text{ g} = 0,50 \text{ g d'acide sorbique libre.}$$

Le deuxième lavage est correct ; en effet, le rapport moléculaire acide sorbique / Zinc est égal à 2,00. Mais on a finalement dans le précipité

$$2,28 \text{ g} + 0,50 \text{ g} = 2,78 \text{ g d'acide sorbique en trop.}$$

Dans les trois lavages suivants, on extrait environ :

$$0,21 \text{ g} \times 3 = 0,63 \text{ g d'acide sorbique libre,}$$

c'est-à-dire qu'à la fin il subsiste :

$$2,78 \text{ g} - 0,63 \text{ g} = 2,15 \text{ g d'acide sorbique en excès.}$$

On voit donc qu'il faudrait encore au moins 10 lavages avec 300 ml d'eau chacun pour enlever, en principe, cet excès d'acide sorbique.

Mais, simultanément, on perdrait 3,90 g de zinc sous forme de sorbate de zinc ; donc le rendement final tomberait à :

$$\frac{[16,34 - (3,77 + 3,90)] \times 100}{16,34} = 53 \%$$

L'opération ne serait pas rentable, car ce léger excès d'acide sorbique dans le sorbate de zinc n'est pas très gênant pour l'utilisation que nous envisageons.

Cette évaluation n'est d'ailleurs qu'une spéculation de principe, car il est bien certain (nos essais de dissolution l'ont bien montré) que le sorbate de zinc s'hydrolyse en même temps qu'il se dissout. C'est d'ailleurs vrai pour tous les savons de zinc.

Aussi, nous proposons l'explication suivante en nous plaçant dans le cas des derniers lavages (partie quasi-rectiligne des courbes-figure 5) afin que le phénomène ne soit pas perturbé par la présence des ions SO_4^{--} et Na^+ . Etant donnée la très faible solubilité de l'oxyde de zinc, on peut admettre que tout le zinc dosé est sous forme de sorbate de zinc.

A 0,390 g de zinc correspond 1,34 g d'acide sorbique combiné et l'excès 0,21 g d'acide sorbique libre présente une solubilité de

$$\frac{0,21 \text{ g} \times 100}{290} = 0,072 \% \text{ au lieu de } 0,15 \% \text{ dans l'eau pure au même pH et à la même température.}$$

C'est donc que, du fait de l'hydrolyse du sorbate de zinc, la solubilité de l'acide sorbique est apparemment diminuée. La concentration du sorbate de zinc, exprimée en sorbate de zinc, $2 \text{ H}_2\text{O}$, calculée à partir du zinc est :

$$\frac{0,39 \times 323,37 \times 100}{65,37 \times 290} = 0,66 \%$$

solubilité beaucoup plus grande que celle de $\text{Zn}(\text{OH})_2$. Ces concentrations, exprimées en moles par litre sont :

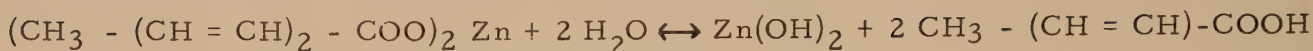
. pour l'acide sorbique :

$$\frac{0,072 \times 1000}{112 \times 100} = 64 \cdot 10^{-4}$$

. pour le sorbate de zinc :

$$\frac{0,66 \times 1000}{323,37 \times 100} = 2 \cdot 10^{-2}$$

La réaction à l'équilibre peut s'écrire :



La constante de dissociation hydrolytique du sorbate de zinc est donc de l'ordre de :

$$K = \frac{[\text{Zn}(\text{OH})_2] [\text{Ac. sorbique}]^2}{[\text{sorbate de Zn}]} = 5,32 \cdot 10^{-11}$$

pK est voisin de 10,3

La stabilité hydrolytique du sorbate de zinc est donc très faible et il est vain de vouloir le préparer absolument pur par voie humide.

On peut lui assigner une solubilité aqueuse voisine de 0,85 % mais ceci n'aura pas grand sens en pratique puisqu'il y aura hydrolyse et précipitation au moins partielles d'hydroxyde de zinc.

Dans ces conditions, nous nous contenterons d'appeler "sorbate de zinc" le produit de précipitation d'une solution de sorbate alcalin par une solution d'un sel soluble de zinc.

Les meilleures préparations sont obtenues avec des rendements de l'ordre de 70 à 80 % si l'on veut éliminer les anions sulfates provenant du sel de zinc employé dans la préparation.

Ainsi obtenu, le produit renferme entre 1,97 et 2,05 molécules d'acide sorbique pour un atome de zinc et il retient deux molécules d'eau.

Mais si nous ne voulions pas éliminer les ions sulfates et sodium, c'est-à-dire ne pas laver le précipité, le rendement ne serait tout de même que de :

$$\frac{(16,34 - 1,156) \times 100}{16,34} = \text{environ } 93 \%,$$

cette baisse de rendement étant due aux effets de l'eau employée, en quantité minimum nécessaire, pour mettre au départ le sorbate de sodium et le sulfate de zinc en solution.

Les dosages de zinc ont été effectués par complexométrie (EDTA + noir ériochrome T en milieu tampon ammoniacal, pH = 9,5). Le virage est

très net et le dosage très précis.

Les dosages de l'acide sorbique ont été réalisés par spectrophotométrie d'absorption UV à une longueur d'onde de 2580 Å° en solution diluée dans le tampon ammoniacal ou en solution aqueuse de pH convenable.

Caractères : Le sorbate de zinc fraîchement préparé se présente comme une poudre blanche, peu soluble dans l'eau (0,85 %) et encore moins dans l'alcool (0,5 %), plus soluble dans le benzène (1 %) et le propylène glycol (1,5 %).

Le sorbate de zinc ne fond pas, mais à partir de 180°, il commence à se décomposer en charbonnant.

Pour son identification, nous proposons l'essai suivant :

A 5 g de sorbate de zinc, on ajoute 20 ml d'eau et 25 ml de H₂SO₄ dilué, on triture au mortier ; on extrait deux fois à l'éther, on lave à l'eau et on sèche l'extrait étheré.

Après évaporation du solvant, le produit obtenu donne les réactions de l'acide sorbique ; le spectre UV est caractéristique et, réalisé quantitativement, il permet de doser l'ion sorbate du sorbate de zinc. Le PF de l'acide sorbique récupéré doit être compris entre 133 et 135°.

Sur la solution aqueuse acide, on peut faire les réactions caractéristiques du zinc.

Stabilité : Le sorbate de zinc, qui se présente à l'état frais comme une poudre blanche, a tendance à jaunir avec le temps.

L'un des échantillons préparés, conservé en flacon bouché, à la température du laboratoire, avait pris, en un an, une couleur jaune pâle. Nous y avons redosé les éléments zinc et ions sorbates et essayé de savoir quelle altération le produit avait subie.

Pesant 25 mg de ce produit, nous avons dosé le zinc et l'acide sorbique ; nous avons en même temps dosé ces éléments dans un sorbate de zinc fraîchement préparé sur lequel nous avons confirmé les résultats obtenus l'année précédente sur le premier échantillon.

	Zn dans 25 mg	% de Zn	Ac. sorbique dans 25 mg	% Ac. sorbique
Sorbate de Zn fraîchement préparé	4,95	19,80	15,70	62,8
Sorbate de Zn ancien	4,32	17,28	2,28	9,12
Sorbate de Zn théorique	5,05	20,2	17,31	69,0

Le produit a donc perdu de l'acide sorbique et du zinc. Or, le zinc n'a pas pu se transformer ; c'est donc que le produit a augmenté de poids, en fixant sans doute de l'oxygène ou des radicaux hydroxyle.

Nous avons essayé de calculer cette augmentation de poids. Si nous l'appelons x, nous pouvons écrire :

$$\frac{17,28}{100} = \frac{19,8}{100 + x} \quad x = 14,6 \%$$

Le même calcul par rapport au sorbate de zinc théorique donne :

$$\frac{17,28}{100} = \frac{20,2}{100 + x} \quad x = 16,9 \%$$

L'acide sorbique représentait au départ 62,8 % du poids moléculaire ; au bout d'un an, les 9,12 % correspondent en réalité à :

$$\frac{9,12}{114,6} = 7,96 \% \text{ du produit initial}$$

Donc il a disparu : 62,8 g - 7,96 g = 54,84 g d'acide sorbique %.

De même, si nous faisons le calcul en nous basant sur le sorbate théorique, nous avons :

$$\frac{9,12}{116,9} = 7,80 \%$$

et il a disparu : 62,8 g - 7,80 g = 55 % d'acide sorbique.

Ces 55 g d'acide sorbique disparus ont fixé 16,9 % d'oxygène ou

d'hydroxyle soit, pour une molécule d'acide sorbique :

$$\frac{16,9 \times 112}{55} = 34,41 \text{ g}$$

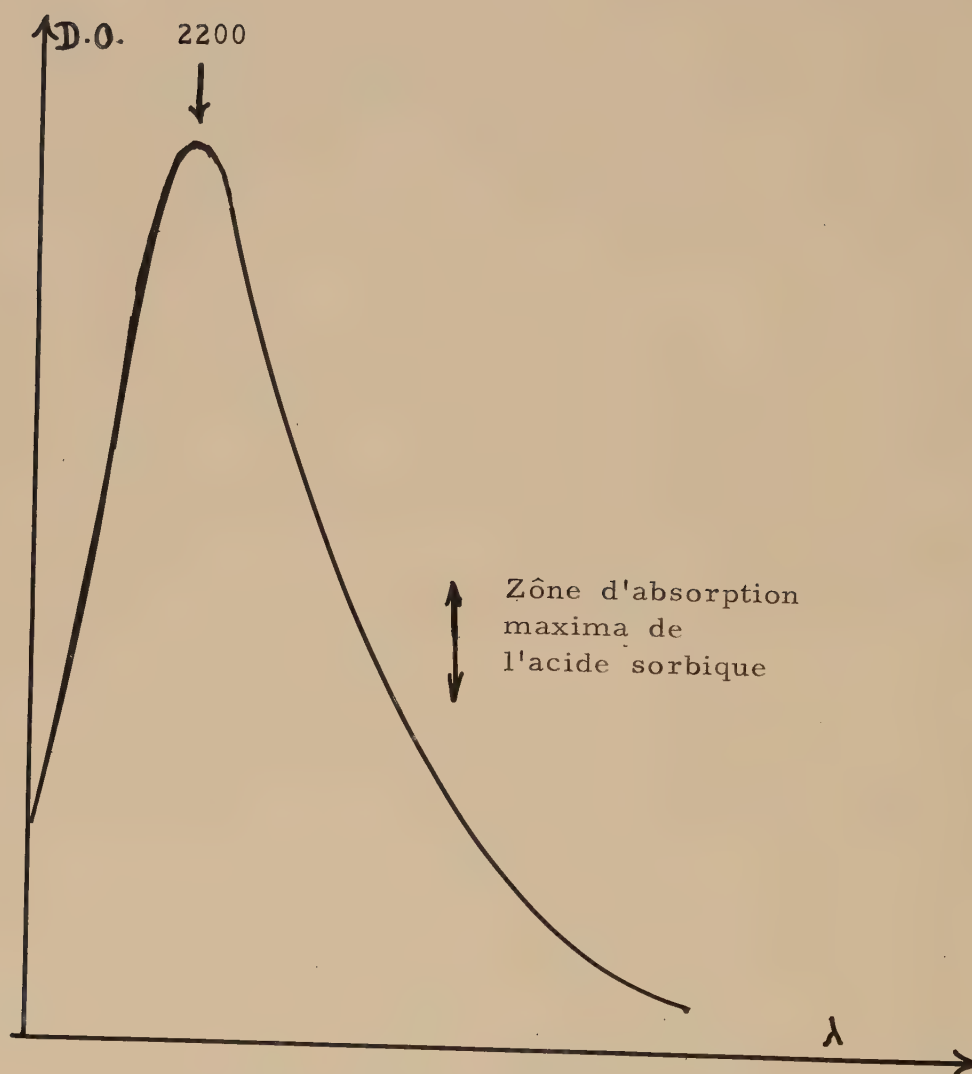
En partant uniquement des valeurs expérimentales, on trouve une augmentation de poids de 29,81 g par mole d'acide sorbique disparu. Comme il peut y avoir eu quelques pertes d'acide sorbique par oxydation en produits volatils, on peut admettre qu'il s'est fixé sur une molécule d'acide sorbique $2 \text{ O} = 32 \text{ g}$, ou $\text{O-OH} = 33 \text{ g}$, ou $2 \text{ OH} = 34 \text{ g}$.

Nous avons alors cherché à identifier ces produits d'oxydation. Les réactions des peroxydes et des céto-acides se sont montrées négatives. Nous avons pu mettre en évidence des traces d'acétaldéhyde et de dialdéhyde malonique par le réactif de Schiff et la condensation directe avec l'acide thiobarbiturique ; mais une estimation colorimétrique à partir de gammes étalons nous a montré que ces composés aldéhydiques ne dépassent pas 0,05 % du sorbate de zinc. Nous avons essayé d'extraire les acides par l'éther en milieu chlorhydrique environ 2N.

. Sur du sorbate de zinc fraîchement préparé, l'extrait étheré laisse, après évaporation de l'éther à l'air, une poudre blanche. Le point de fusion est un peu inférieur à celui d'un échantillon d'acide sorbique pur et le spectre ultraviolet indique qu'il s'agit d'acide sorbique à 96 %. La détermination de l'indice d'acidité donne de même une pureté de 96,2 % (Poids moléculaire trouvé = 107,75 au lieu de la valeur théorique de 112) en excellent accord avec la spectrographie. L'impureté présente doit être simplement un peu d'eau ou un produit neutre non volatil venant peut-être de l'éther.

. Sur du sorbate de zinc vieilli, l'éther n'extraît pas, même après 8 lavages avec des volumes d'éther sensiblement égaux à celui de la suspension aqueuse, la totalité des acides précipités. Par contre, tout l'acide sorbique est extrait, comme on peut s'en assurer en examinant le dernier lavage au spectrophotomètre (figure 7).

Les extraits étherés ont été réunis et évaporés puis analysés comme précédemment. La poudre obtenue est jaunâtre et son point de fusion est voisin de 74°. L'examen dans l'ultraviolet (figure 8) indique la présence de 46 % d'acide sorbique et d'au moins un autre acide absorbant à 2170-2180 Å°. L'indice d'acidité correspond à un poids moléculaire global de 125 (130,2 si l'on tient compte de l'extrait sec de l'éther employé). De ces deux résultats, on déduit pour l'acide (ou l'ensemble des acides) accompagnant l'acide sorbique un poids moléculaire donné par :



Résidu d'extraction à l'éther des
acides d'un sorbate de zinc vieilli

Figure 7



Figure 8

$$(0,46 \times 112) + (1 - 0,46) \text{ PM} = 130,2$$

$$\text{PM} = 145,7$$

en bon accord avec celui des acides dihydroxy-dihydro-sorbiques (146). Parmi tous les isomères possibles de ceux-ci, seul celui présentant une conjugaison entre la double liaison $C = C$ et le carboxyle peut être responsable du pic à 2170-2180 $\text{\AA}$ dans le spectre des acides totaux. En effet, le chromophore - $C = C - C = O$ absorbe vers 2150-2180 $\text{\AA}$

$$\begin{array}{c} | \\ \text{OH} \end{array}$$

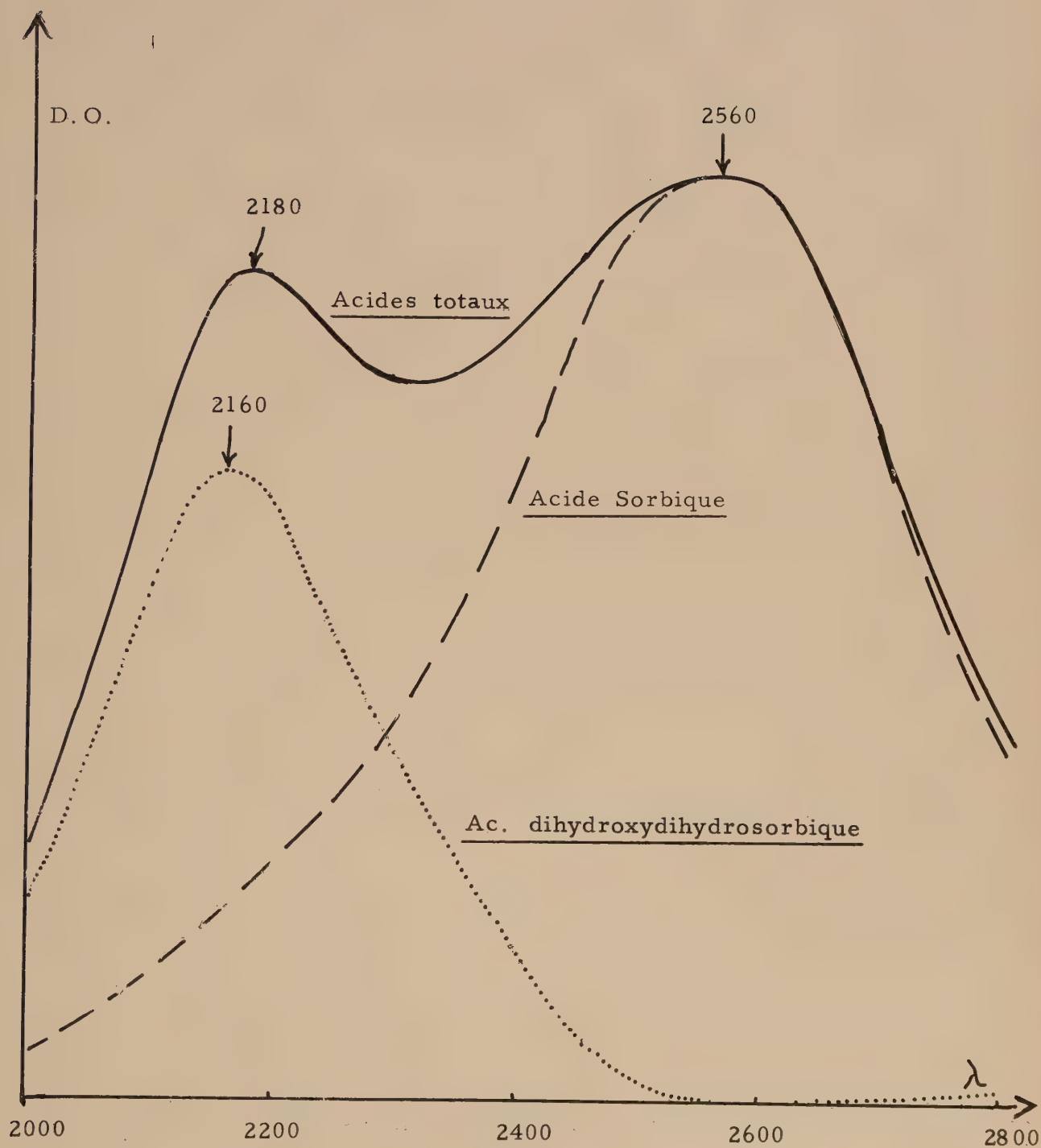
et les doubles liaisons isolées n'absorbent que beaucoup plus loin dans l'ultraviolet.

Le spectre ultraviolet de l'acide (ou de l'ensemble des acides) accompagnant l'acide sorbique dans un sorbate de zinc vieilli a été déterminé en soustrayant du spectre d'une solution aqueuse acide ce qui était dû à l'acide sorbique présent (calculé d'après le maximum à 2580 $\text{\AA}$) (Figure 9). Le maximum d'absorption pour l'impureté est à 2150-2160 $\text{\AA}$ confirmant bien le résultat précédent. On peut donc penser que l'acide sorbique serait, par vieillissement du sorbate de zinc, transformé en acide dihydroxy-4,5 dihydro-4,5 sorbique :



Celui-ci a été cité par Heinänen, puis préparé par Hamada par oxydation peracétique de l'acide sorbique. En fait, le produit décrit est certainement très impur : substance sirupeuse plus ou moins foncée, cristallisant très difficilement avec un point de fusion compris entre 68 et 77°C, facilement soluble dans l'eau et l'alcool et insoluble dans l'éther. Comme nous avons employé dans l'expérience antérieure un grand volume d'éther, il est possible que, malgré l'insolubilité indiquée, nous ayons extrait assez de cet acide à côté de l'acide sorbique pour avoir son spectre.

Nous avons repris la poudre jaunâtre fournie par l'évaporation de notre extrait étheré par différents solvants, dans l'espoir de séparer l'acide sorbique et l'acide dihydroxy-dihydro-sorbique, soit par cristallisation fractionnée, soit par précipitation fractionnée. La séparation de l'acide sorbique se fait assez bien, mais nous n'avons pas pu obtenir l'acide dihydroxy-dihydro-sorbique sous forme pure. Après évaporation des solvants, les cristallisations se font très mal et les concentrations s'accompagnent de polymérisations ou de cyclisation. Comme ces opérations ne portent que sur quelques milligrammes, (très faible extraction initiale par l'éther), nous avons cru préférable de porter nos efforts sur la phase aqueuse et sur le produit acide rassemblé à l'interface eau/éther dans nos tentatives d'extraction.



Analyse différentielle du spectre des acides d'un
Sorbate de zinc vieilli

Figure 9

Effectivement, la phase aqueuse, lavée comme nous l'avons dit jusqu'à ce que l'éther n'extraie plus d'acide sorbique, montre encore une forte absorption dans l'ultraviolet avec le seul pic à 2150-2160 Å°. Malheureusement, là non plus, nous n'avons pas pu obtenir la cristallisation du ou des corps responsables de cette absorption. Par concentration même sous vide, nous arrivons à un résidu visqueux, plus ou moins brun, qui refuse de cristalliser même après extraction avec divers alcools. Une purification éventuelle par cristallisation des sels, puis libération des acides ne résoud pas le problème, pas plus que le passage sur résines échangeuses d'ions, car on retourne à des solutions aqueuses dont la concentration ne donne rien de convenable.

Quant au produit qui s'est rassemblé entre les deux phases, aqueuse et étherée, au cours de nos tentatives d'extraction des acides sur du sorbate de zinc vieilli, nous l'avons lavé, séché et examiné. C'est une poudre beige, dont l'indice d'acidité correspond à un acide monovalent de poids moléculaire très voisin de 145. Le spectre ultraviolet indique qu'elle renferme le même acide insaturé (pic à 2160 Å°). La poudre ne fond pas à 130°C et se sublime en se décomposant et charbonnant pour une température du banc supérieure. Nous avons essayé de la faire recristalliser dans divers solvants sans succès véritable. A chaque reprise, elle se dissout plus ou moins dans l'eau ou mieux dans l'alcool, mais ces solutions ne cristallisent pas. Elles fournissent toujours le même spectre, mais avec des intensités variables suivant le mode de dissolution (température et temps de chauffage).

Le spectre infra-rouge de cette poudre séchée sous vide pendant plusieurs jours, a été fait par M. Corneteau que nous tenons à remercier ici. Par rapport à celui de l'acide sorbique, on constate :

- . que la bande des hydroxyles ($2500-3300\text{ cm}^{-1}$) s'est élargie considérablement vers les 3500 cm^{-1} , indiquant l'apparition des fonctions alcool,

- . que la bande du groupe $\text{C} = \text{O}$ passe de $1680-1690\text{ cm}^{-1}$ à $1710-1720\text{ cm}^{-1}$, ce qui correspond à une diminution dans la conjugaison avec les doubles liaisons,

- . que, simultanément, le doublet dû aux deux doubles liaisons conjuguées - $\text{C} = \text{C} - \text{C} -$ à $1620-1640\text{ cm}^{-1}$ disparaît,

- . qu'en dessous de 1500 cm^{-1} , le spectre est profondément modifié mais qu'on n'y retrouve aucune des bandes habituelles des peroxydes et hydroperoxydes.

Les spectres IR de sorbates de zinc plus ou moins anciens fournissent

à première vue des indications qualitatives du même genre. Mais disons tout de suite qu'une étude détaillée des spectres IR de l'acide sorbique et de ses dérivés et de leur vieillissement était impossible dans le cadre de notre travail initial. Elle sera certainement très utile et nous avons bien l'intention de l'entreprendre dès que possible.

Par le calcul, en admettant que l'acide sorbique disparu soit effectivement passé à l'état d'acide dihydroxy-4,5 dihydro-4,5 sorbique, on peut, à partir des spectres ultraviolets, estimer le coefficient d'absorption moléculaire de cet acide. Sur trois échantillons différents, nous avons trouvé :

$$\epsilon = 5581, 5524 \text{ et } 5560$$

(en admettant aussi que la loi de Beer soit suivie).

Ces valeurs sont tout à fait de l'ordre de grandeur attendu, à peu près 5 fois moins que pour l'acide sorbique. Nous l'avons confirmé en déterminant, à des densités optiques du même ordre, les spectres des acides crotonique, acrylique et méthacrylique pour lesquels nous avons obtenu des valeurs voisines aussi de 4500 à 5500. Mais la loi de Beer n'est pas intégralement suivie ; il est vraisemblable qu'il en est de même pour l'acide dihydroxy-dihydro-sorbique. Les valeurs précédentes ne sont donc qu'approchées et les résultats expérimentaux peuvent être considérés comme concordants.

Ayant observé qu'un sorbate d'isoamyle (voir plus loin) s'était lui aussi altéré, nous avons essayé d'en retirer les acides après saponification. Là aussi, nous avons abouti aux mêmes produits et nous avons, à partir des spectres et des indices de saponification, calculé encore le coefficient d'absorption moléculaire et le poids moléculaire de l'impureté apparue. Les valeurs trouvées : $PM = 144$ et $\epsilon = 5550$ confirment les résultats obtenus à partir des sorbates de zinc.

Enfin, nous avons voulu préparer l'acide dihydroxy-dihydro-sorbique par oxydation permanganique et par oxydation par le perhydrol en milieu acétique, dans les conditions classiques d'hydroxylation des doubles liaisons. Les difficultés de séparation et de purification sont finalement les mêmes. Avec les moyens dont nous disposions, jusqu'au stade solution aqueuse à environ 20-30 % il n'y a pas trop de difficultés, mais au delà nous n'avons pu obtenir que des sirops épais.

L'oxydation par le perhydrol acétique se fait bien et de façon presque quantitative en donnant sensiblement autant de dérivés acétoxy-hydroxy que de produits dihydroxylés, mais après saponification de l'ester

acétique, nous n'avons pas pu séparer l'acide dihydroxylé.

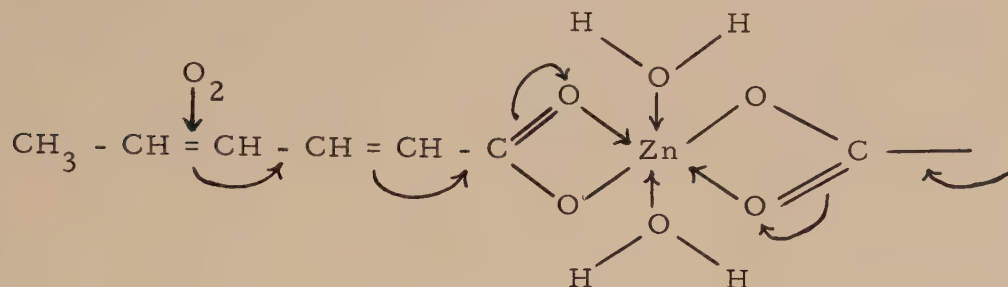
C'est seulement dans le cas de l'oxydation permanganique qu'une extraction isobutanolique nous a laissé quelques aiguilles très fines d'un produit difficile à sécher pour lequel nous avons trouvé un poids moléculaire de 151 et un coefficient d'extinction moléculaire de 4493 (λ maximum à 2160 Å°). Mais la réaction d'hydroxylation est ici une cis addition conduisant donc aux isomères thréo alors que l'auto-oxydation et la dihydroxylation par l'eau oxygénée doivent fournir par trans addition les isomères érythro.

L'oxydation avancée de l'acide sorbique et de ses dérivés peut, d'après Heinänen, conduire à des structures fumariques et même à l'acide oxalique. Or, l'acide fumarique présente aussi un maximum d'absorption dans l'ultraviolet à peu près à la même longueur d'onde (2170 Å°), ce qui risque d'enlever beaucoup de valeur à nos conclusions quant à la nature des impuretés présentes dans le sorbate de zinc vieilli. Mais le point de fusion de l'acide fumarique (environ 290°), ses solubilités dans l'eau, l'alcool et l'éther et leurs variations avec la température, et surtout son équivalent alcalimétrique ($116/2 = 58$), sont en désaccord avec ce que nous avons observé. De plus, la formation d'acide fumarique, faisant apparaître une fonction supplémentaire, aurait dû entraîner une acidification du produit, ce que nous n'avons pas constaté même sur des produits vieux de deux ans. On aurait dû également noter une diminution de poids par suite de la rupture de la chaîne carbonée avec perte d'acétaldéhyde ; si nous avons bien diagnostiqué des traces d'éthanal et même de dialdéhyde malonique, il y avait au contraire augmentation de poids.

Donc, la formation de dérivés fumariques n'a pu avoir lieu, elle aussi, qu'à un taux très faible, si elle a eu lieu. Notons, en plus, que nous n'avons jamais pu mettre en évidence d'acide oxalique dans le sorbate de zinc vieilli.

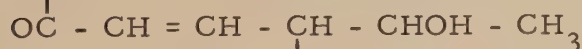
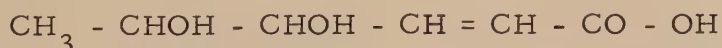
Comment interpréter ces résultats expérimentaux et l'altération du sorbate de zinc par vieillissement ? Il n'y a aucun doute qu'il s'agit d'une auto-oxydation mais que, dans nos observations, elle est à la fois plus rapide et moins poussée que dans les travaux de Heinänen. Le premier stade est à peu près certainement un couplage entre une molécule d'oxygène et le système de doubles liaisons conjuguées de l'acide sorbique, initialement au moins par transfert de charge entre l'oxygène et une orbitale π rendue plus ou moins vacante à l'extrémité de la chaîne carbonée par la conjugaison avec le groupe complexe,

carboxylate de Zinc ; exemple de mécanisme proposé :



La réaction en chaîne qui suit se fait sans accumulation de peroxydes. D'ailleurs Heinänen, dans l'autooxydation de l'acide sorbique en solution benzénique, n'a pas décelé non plus de formation d'eau oxygénée. Par contre, il a constaté la fixation de 1,5 mole à 1,3 mole d'oxygène sous forme de peroxyde dont la rupture conduit aux dérivés fumariques, oxaliques, etc ... Ici, nous aboutissons, à peu près certainement par intervention de l'eau, directement à l'acide dihydroxy-4,5 dihydro sorbique ; ceci a sans doute déjà lieu dans le produit en poudre et non au moment de la dissolution de celui-ci pour extraction ou analyse. En effet, si le passage peroxyde $\longleftrightarrow$ acide dihydroxylé se faisait seulement au moment de la mise en contact du solide avec l'eau, on devrait pouvoir caractériser la formation transitoire de H_2O_2 , ce qui n'est pas le cas. Nous pensons donc que, dans notre cas particulier, le sorbate de zinc s'est oxydé à l'état de dihydroxy-4,5 dihydro-4,5 sorbate de zinc. La bande des hydroxyles alcooliques apparait en effet de plus en plus nettement dans les spectres IR au fur et à mesure du vieillissement.

Dans nos essais d'extraction ou de dissolution, l'acide est libéré mais il peut se lactoniser ou se condenser sur lui-même lorsqu'on cherche à concentrer les solutions aqueuses. Les formules suivantes peuvent effectivement être écrites sans faire disparaître le chromophore - C = C - C = O.



Une anhydrisation réversible fumarique ou pyranique, soit sur l'acide lui-même, soit sur les polymères, sous l'influence de l'acidité peut rendre compte de l'insolubilisation relative de ces produits à l'interface eau-éther dans nos essais d'extraction. Ces cyclisations diminuent en même temps le nombre de chromophores présents, si bien qu'on pourrait expliquer ainsi les variations de ϵ suivant le processus de dissolution. Par exemple, sur le monomère :



L'examen des spectres IR n'exclut pas la présence de tels cycles, ni des fonctions lactones insaturées ; il confirme en tous cas la présence des fonctions alcools secondaires, la présence du groupe $\text{C} = \text{C} - \text{C} = \text{O}$ et disparition de la double liaison Δ_4 .

Heinänen, considérant la configuration trans de l'acide dihydroxy dihydro-sorbique, rejette la possibilité d'une lactonisation. Cependant, nous serons moins affirmatif, car le rapport d'intensité des bandes CO et Δ au voisinage de 6 microns indique qu'une configuration cisofide ne doit pas être exclue, ce qui permettrait une formation facile des δ lactones. L'étude détaillée de l'absorption infrarouge, intense au voisinage de $1740 - 1750 \text{ cm}^{-1}$ en particulier, devra (ultérieurement) nous permettre de résoudre ce problème.

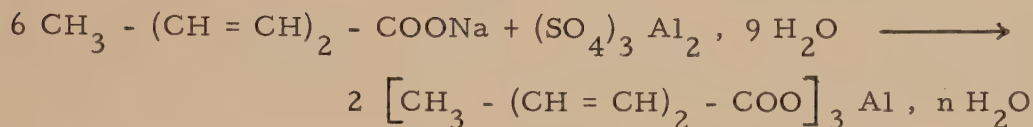
L'acide dihydroxy-4,5 dihydro-4,5 sorbique est beaucoup moins sensible à l'auto-oxydation ; d'une part, il est moins conjugué que l'acide sorbique ; d'autre part, la double liaison restante est bien protégée dans le sel de zinc par tout le groupe carboxylate de zinc dihydraté. Ce dernier point explique que l'auto-oxydation du sorbate de zinc n'atteigne pas le stade fumarate, contrairement à ce qu'avait observé Heinänen avec l'acide sorbique, et ne consomme qu'une molécule d'oxygène au lieu de 1,5 à 1,3 (Heinänen).

Pour fixer un ordre de grandeur de l'instabilité du sorbate de zinc, indiquons qu'en deux ans la transformation en dihydroxydihydro-sorbate a porté sur environ 85 % de l'acide sorbique mais qu'elle ne progresse que très lentement ensuite. Nous n'avons même pas pu transformer en totalité le sorbate de zinc en dihydroxydihydrosorbate par barbotage d'air dans une suspension de sorbate.

b) Sorbate d'aluminium

Préparation : Le sorbate d'aluminium a été préparé de la même façon que le sorbate de zinc, c'est-à-dire par double décomposition entre

une solution de sorbate de sodium et une solution de sulfate d'aluminium.



Le lavage du précipité pour éliminer les ions sulfates est un peu plus difficile que pour le sel de zinc (6 à 7 opérations sont nécessaires). En effet, une partie du produit donne une suspension très fine qui passe à travers les filtres et résiste à une centrifugation normale. Les eaux de lavage restent légèrement troubles, sans doute par suite d'une hydrolyse du sel d'aluminium et transformation en alumine dans les filtrats.

Le rendement de l'opération est voisin de 80 %.

Comme pour le sorbate de zinc, au cours des lavages, on élimine dans les premiers davantage d'alumine que d'acide sorbique. A ce moment, le rapport moléculaire Acide sorbique / Aluminium est en effet inférieur à 3. Ce n'est qu'au troisième lavage qu'on arrive à un rapport égal à la valeur théorique 3 d'un trisorbate d'aluminium. Puis, dans les lavages ultérieurs, on a un léger excès d'acide sorbique en solution.

Sur le produit fraîchement préparé, les résultats analytiques indiquent une composition du précipité sec très voisine de celle d'un trisorbate anhydre. Ceci est confirmé par les bilans sur l'acide sorbique et sur l'aluminium au cours de la préparation (pertes dans les eaux de lavage + composition du précipité = Acide sorbique total ou aluminium total).

On a trouvé pour le précipité :

$$\frac{\text{Acide sorbique}}{\text{Aluminium}} = \frac{52,18}{112} : \frac{4,25}{27} = 2,97$$

au lieu de la valeur théorique 3.

Caractères : Le sorbate d'aluminium fraîchement préparé se présente comme une poudre blanche dont la solubilité dans l'eau à 20° est de l'ordre de 0,30 g %.

On peut y caractériser et y doser l'aluminium et l'acide sorbique.

Nous avons dosé l'aluminium soit par complexométrie (dosage en retour de l'EDTA par une solution de sulfate de zinc en présence de dithizone),

soit en transformant le sorbate d'aluminium en alumine par calcination et en pesant cette alumine.

L'acide sorbique peut être extrait à l'éther acide et caractérisé et dosé comme pour le sorbate de zinc.

Stabilité : Le spectre ultraviolet de l'acide sorbique est normal à partir du produit fraîchement préparé, mais, au bout de 12 jours, on observe en plus un pic à 2150-2160 Å°, presque aussi important que celui caractéristique de l'acide sorbique à 2560 Å°. Le sorbate d'aluminium est donc encore plus instable que le sorbate de zinc, et l'oxydation correspond aussi à la formation d'acide dihydroxy-4,5 dihydro-4,5 sorbique. En effet, l'augmentation de poids du précipité en vieillissant est, ici encore, voisin de 34 g par mole d'acide sorbique disparue.

L'aluminium serait un catalyseur d'oxydation plus efficace que le zinc, d'où la grande difficulté à conserver le sorbate d'aluminium sans altération.

c) Sorbate de cuivre

Préparation : Le sorbate de cuivre a été obtenu dans des conditions semblables à celles employées pour les sorbates de zinc et d'aluminium, mais avec un rendement variant de 88 à 90 %, donc nettement supérieur à ceux obtenus précédemment. Ceci est dû en partie à une solubilité inférieure du sorbate de cuivre. En effet, à la température de 20°C, nous avons trouvé une solubilité de 0,14 %.

Pour préparer le sorbate de cuivre, nous avons fait réagir une solution de sulfate de cuivre (1/4 mole) sur du sorbate de sodium (1/2 mole). Agitation 1/2 heure, contact 2 heures, essorage, lavages pour éliminer les ions sulfates, séchage sous vide à la température du laboratoire.

Nous avons dosé le cuivre et l'acide sorbique dans les différentes fractions des eaux de lavage. Nous retrouvons le même phénomène que lors de la préparation du sorbate de zinc :

- au début, nous avons plus de cuivre que d'acide sorbique et le rapport moléculaire acide sorbique/cuivre est inférieur à sa valeur théorique 2.
- au deuxième lavage, nous trouvons une valeur voisine de 2,00.
- dans les deux derniers lavages, la valeur du rapport est de l'ordre de 2,50 : nous avons davantage d'acide éliminé que de cuivre.

Tout ceci se trouve résumé dans le tableau suivant :

Fraction	Volume des eaux de lavage	Zn en g	Ac. sorbique en g	Rapport mol. Ac. sorb. / Cu	Cu trouvé à partir Ac. sorb.	Ac. sorbique trouvé à partir Cu
1	800	0,53	1,09	1,165	0,31	1,37
2	260	0,10	0,35	1,984	0,10	0,35
3	630	0,16	0,73	2,58	0,20	0,56
4	480	0,11	0,47	2,42	0,13	0,39
Total	2170	0,90	2,64	1,66	0,74	3,17

Nous arrivons aux mêmes conclusions que pour le sorbate de zinc : il reste dans le précipité un léger excès d'acide sorbique libre et il nous faudrait encore une dizaine de lavages pour l'éliminer, mais, automatiquement, ces lavages abaisseraient le rendement. Comme l'acide sorbique libre n'est pas gênant dans l'emploi antifongique que nous envisageons pour nos sorbates, il n'y a pas lieu de poursuivre ces lavages.

Nous avons d'ailleurs dosé le cuivre et l'acide sorbique dans le précipité correspondant à la préparation d'1/4 de mole de sorbate de cuivre,

Poids de précipité obtenu en g	Poids théorique attendu	Rendement	Cu dans le précipité	Ac. Sorb. dans le précipité	Rapp. / mol. <u>Ac. Sorb.</u> Cu	P. M. à partir du Cu	P. M. à partir Ac. Sorb.
63	71,37	88,27 %	14,20 g	50,60 g	2,02	281,7	278,9

Nous voyons que le rapport moléculaire Acide Sorbique / Cuivre est voisin de 2. La pureté apparente de notre produit est donc satisfaisante ; l'excès d'acide sorbique ne dépasse pas 1 %, c'est-à-dire n'est pas appréciable, compte tenu de la précision des dosages.

Le poids moléculaire théorique du sorbate neutre de cuivre anhydre est de 285,5. Le poids moléculaire trouvé à partir du cuivre dosé dans le précipité étant de 281,7 et celui trouvé à partir de l'acide sorbique étant de 278,9, nous avons pensé adopter cette formule pour le sorbate de cuivre que nous avons préparé.



Le cuivre a été dosé par spectrophotométrie en milieu ammoniacal 1,3 M à $\lambda = 6200 \text{ \AA}$. Nous obtenons une coloration bleue très stable.

L'acide sorbique, comme pour le sorbate de zinc, a été dosé par spectrophotométrie d'absorption dans l'UV à $\lambda = 2560 \text{ \AA}$.

Caractères : Le sorbate de cuivre se présente comme une poudre bleu turquoise dans laquelle nous avons retrouvé les réactions du cuivre et de l'acide sorbique.

Le sorbate de cuivre est dissous dans de l'eau acidifiée par ClH . La solution filtrée :

- est colorée en bleu,
- additionnée de soude, elle donne un précipité ne se dissolvant pas dans un excès de soude,
- en présence d'ammoniaque, le cuivre reste en solution par suite de la formation de complexes amminés bleus,
- précipite en noir par le polysulfure d'ammonium,
- colore la flamme en vert,
- etc ...

L'ion sorbate du sorbate de cuivre donne un maximum d'absorption en spectrophotométrie UV à des λ qui sont fonction du solvant et du pH de la solution, en accord avec ce que nous avons trouvé pour l'acide dans ces différentes conditions.

A une quantité de sorbate de cuivre connue, de l'ordre de 1 g, on ajoute 20 ml d'eau et 25 ml d'acide sulfurique dilué ; on triture au mortier. On extrait 2 fois à l'éther. On lave la solution étherée avec de l'eau. On sèche et on évapore l'éther. Le résidu est de l'acide sorbique qui fond à une température de 134-135°C.

Après oxydation sulfochromique, l'acide sorbique du sorbate de cuivre donne une coloration rose avec l'acide thio-2 barbiturique.

Nous avons cherché la solubilité de notre sorbate de cuivre dans différents solvants. Nous trouvons ainsi :

- dans l'eau à 20° : 0,14 %
- dans l'eau à 100° : 0,4 %
- dans l'alcool à 95° (t = 20°) : 0,4 %
- dans le benzène : pratiquement insoluble (0,01%)
- dans le propylène glycol : 0,3 %

A une température de l'ordre de 250°, le sorbate de cuivre se décompose en charbonnant, mais on peut déterminer un point de fusion instantané de 262 à 265°.

Stabilité : Contrairement aux sorbates de zinc et d'aluminium, le produit semble très stable. En effet, après avoir été conservé 2 ans au laboratoire en flacon bouché, il avait conservé la même couleur. Nous l'avons analysé et nous avons retrouvé l'acide sorbique et le cuivre dans les mêmes proportions. Il n'y a eu ni augmentation, ni perte de poids. Le spectre UV de l'acide sorbique ne présente pas d'anomalie et, en particulier, ne montre pas d'oxydation en acide dihydroxy-4,5 dihydro-4,5 sorbique.

°
° °

Tous ces sorbates minéraux ont été essayés pour leurs propriétés antifongiques.

Les sorbates alcalins ne présentent pas beaucoup d'intérêt ; par contre, les sorbates de cuivre, zinc et aluminium ont montré des propriétés antifongiques très importantes et nettement plus fortes que celles de l'acide sorbique seul, aussi bien sur les champignons parasites des végétaux que sur les champignons parasites des animaux et de l'homme.

Toutes ces expériences seront développées dans la 2ème partie de notre travail.

Comme nous l'avons indiqué, le problème de la stabilité de ces produits est important. Si le sorbate de cuivre se conserve bien, il n'en est pas de même des sorbates de zinc et d'aluminium, car en fait, ces derniers deviennent rapidement un mélange de sorbate et de dihydroxy dihydrosorbate. Toutefois, l'action antifongique des préparations anciennes est au moins aussi forte que celle des sorbates fraîchement préparés. Cependant, ces produits passent du blanc au jaune pâle, et, s'ils devaient être utilisés en thérapeutique, ce changement de couleur pourrait présenter un inconvénient certain. Heureusement, nous n'avons pas pu mettre en évidence l'apparition de peroxydes (ni de céto-acides) et il ne semble pas qu'on doive craindre leur action irritante.

Cette stabilité différente du sel de cuivre d'une part, des sorbates de zinc et d'aluminium d'autre part, est difficile à interpréter. Certes,

nous retrouvons l'ordre habituel d'instabilité des complexes de ces trois métaux vis à vis du même donneur (Voir Pfeiffer, Thielert et Glaser, Mellor et Maley, Van Huitert et ses collaborateurs, Chabarek et Martelle, etc ...), mais il s'agit pour nous de la sensibilité du radical aliphatique vis à vis de l'oxydation et non de la dissociation du complexe. Le parallélisme des deux classifications doit cependant être souligné.

De même, on peut observer que les sorbates sont d'autant plus facilement transformés en dihydroxydihydrosorbates que les métaux associés ont un caractère "amphotère" plus marqué. Les composés aluminiques et zinciques forment également des complexes par transfert de charges avec les composés insaturés plus facilement que les dérivés cupriques. Enfin, l'oxydation du radical sorbique semble se faire ici de façon différente de celle de l'acide sorbique.

Il est donc possible que le zinc et l'aluminium sensibilisent la chaîne insaturée plus que le cuivre en facilitant son couplage avec une molécule d'oxygène ; il est également probable que les sorbates de zinc et d'aluminium renferment, du fait d'une hydrolyse plus facile, plus d'acide sorbique libre à côté d'hydroxyde métallique et que c'est le point de départ de l'auto-oxydation.

Note :

Nous avons envisagé de préparer ces sorbates de zinc, cuivre et aluminium par addition directe de l'acide sorbique sur l'hydroxyde ou l'oxyde métallique correspondant. Cette méthode semble en effet à priori avantageuse puisqu'il n'y aurait pas d'impuretés (autre que l'eau) à éliminer. Malheureusement, le procédé par fusion de l'acide en présence de l'oxyde ou de l'hydroxyde métallique exige une température supérieure à 135°C (PF de l'acide sorbique) et, à cette température l'acide sorbique se sublime ; il faut donc opérer sous pression (en tube scellé chauffé de façon uniforme) et, même ainsi, une partie se sépare de la masse mise à réagir ; mais surtout, l'hydroxyde de cuivre se déshydrate en oxyde noir qui oxyde une partie de l'acide sorbique ; les oxydes de zinc et d'aluminium restent en grande partie inattaqués et les purifications sont impossibles.

Le procédé par voie humide n'est intéressant à priori qu'à partir de l'oxyde de zinc. Pour les sels d'aluminium et de cuivre, il faut au préalable préparer les hydroxydes sous forme réactive et débarrassée de sels étrangers, ce qui est long et incertain. L'oxyde de zinc délayé dans l'eau réagit lentement sur l'acide sorbique (minimum 12 à 24 heures) même à l'ébullition à reflux. Pour diminuer l'importance de l'hydrolyse, il faudrait employer un excès d'acide sorbique ; mais ensuite pour se débarrasser de cet excès, il faut de très nombreux lavages qui entraînent une nouvelle hydrolyse du précipité avec apparition d'oxyde de zinc. Le "Sorbate de zinc" ainsi préparé nous a paru encore moins stable que lorsqu'on l'obtient par double décomposition. Il jaunit déjà au cours du séchage sous pression réduite. Finalement, nous avons abandonné ces procédés.

Cependant, un excellent sorbate de zinc peut être préparé par action de 1,2 fois la quantité théorique d'acide sorbique sur l'oxyde de zinc en suspension aqueuse, à l'ébullition à reflux pendant 12 heures ; après refroidissement et repos pendant la nuit, on essore et on lave à l'alcool pour extraire l'acide sorbique en excès, puis on sèche sous vide. L'excès d'acide sorbique employé ici fait reculer l'hydrolyse du sorbate de zinc et peut être assez facilement éliminé par deux ou trois lavages à l'alcool. Le bénéfice acquis sur la pureté du produit obtenu est quand même minime par rapport à la dépense supplémentaire en alcool et surtout en acide sorbique. La stabilité du produit ne paraît pas améliorée de façon très sensible.

B) Les Sorbates d'Alcanolammoniums

Pour pallier à la faible solubilité de l'acide sorbique et des sorbates antérieurement obtenus, nous avons cherché à préparer des sels d'alcanolammoniums dont la solubilité dans l'eau et les autres solvants organiques serait très grande.

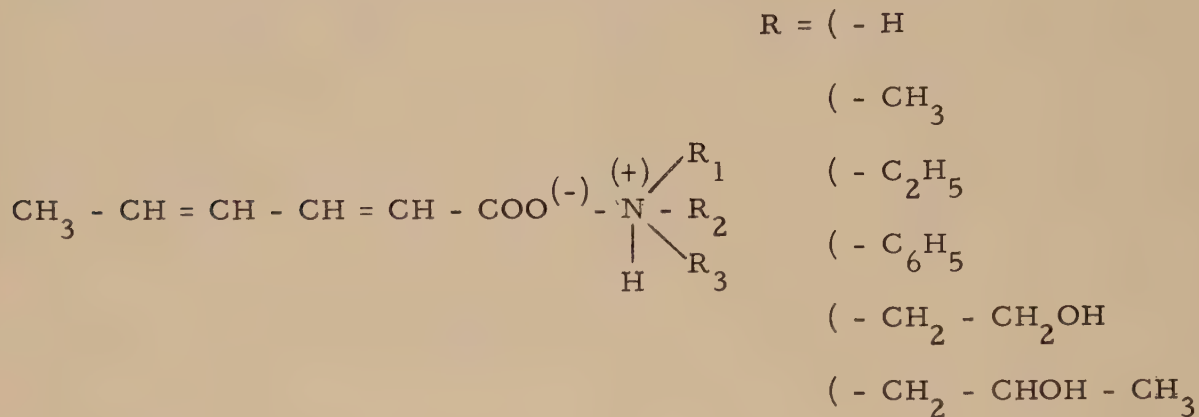
Il est bien connu que les savons d'alcanolammoniums sont des produits tensioactifs et émulsifiants ; aussi, avons-nous pensé que les sels correspondants de l'acide sorbique devraient avoir des vitesses de diffusion et des pouvoirs de pénétration intéressants.

Toutefois, les sorbates d'alcanolammoniums seront des produits très fortement ionisés, car l'acide sorbique est lié à l'alcanolamine par des liaisons électrostatiques. Il en résulte que l'acide sorbique se trouvera fortement dissocié, et on peut craindre que ces savons d'alcanolammoniums présentent finalement des propriétés antifongiques moindres que l'acide sorbique seul.

Il nous a paru tout de même intéressant de préparer certains sorbates

d'alcanolammoniums afin de voir si une plus grande solubilité n'allait pas compenser cette diminution des propriétés antifongiques dues à la forte insaturation du produit.

Les sorbates d'alcanolammoniums peuvent s'écrire d'une façon générale :



Préparation :

La préparation de ces produits consiste à faire réagir à froid, mole à mole, l'acide et l'alcanolamine.

Dans un premier temps, nous avons dissous à froid de l'acide sorbique dans le minimum d'alcool éthylique et ajouté la quantité théorique correspondante d'alcanolamine. Nous avons agité et laissé l'alcool s'évaporer. La réaction est exothermique.

Nous avons constaté que le produit obtenu par cette technique pesait 20 % de plus que le sorbate attendu. Dans les dosages d'amine et d'acide sorbique effectués sur ces produits, nous avons cependant toujours un rapport équimoléculaire entre l'acide sorbique et l'amine. En fait, l'augmentation de poids observée vient d'une très forte rétention de l'alcool employé comme solvant dans la préparation.

Aussi, dans une seconde série d'essais, avons-nous fait réagir l'alcanolamine et l'acide sans solvant. Nous obtenons au début un mélange pâteux ; lorsque la réaction est terminée, nous chauffons légèrement, jusqu'à fusion du mélange ; puis nous les laissons cristalliser par refroidissement.

Certains sels cependant refusent de cristalliser, tellement ils sont hygroscopiques.

Ces produits qui avaient capté de l'eau se présentaient comme des corps vitreux ; pour les conserver aussi anhydres que possible, nous

avons été obligé de les placer dans des dessiccateurs sous vide en présence d'actigel ou de chlorure de calcium.

Propriétés :

Ces savons d'alcanolammoniums se présentent, soit à l'état solide, soit à l'état liquide très visqueux de couleur ambrée.

Ils ont une légère odeur d'amine.

Le pH de ces savons est de l'ordre de 7,5 à 8.

Ils sont hygroscopiques et, de ce fait, très solubles dans l'eau.

La solubilité dans l'alcool et le benzène est aussi très grande, si bien qu'il est difficile de les recristalliser.

Dosage :

Nous avons dosé l'ion sorbate par spectrophotométrie UV en solution aqueuse. L'amine a été dosée par acidimétrie par de l'acide chlorhydrique normal au pH mètre.

Nous avons ainsi obtenu les sorbates dont les formules et caractères sont résumés dans le tableau ci-dessous.

Formule	Caractères
Sorbate de mono éthanol ammonium $\text{CH}_3 - (\text{CH} = \text{CH})_2 - \text{COO} - \text{N} \begin{array}{l} \text{H} \\ \text{H} \\ \text{CH}_2 - \text{CH}_2\text{OH} \end{array}$	Solide cristallisé beige pâle P. M. = 172 PF = 134°C
Sorbate de di éthanol ammonium $\text{CH}_3 - (\text{CH} = \text{CH})_2 - \text{COO} - \text{N} \begin{array}{l} \text{H} \\ \text{H} \\ \text{CH}_2 - \text{CH}_2\text{OH} \\ \text{CH}_2 - \text{CH}_2\text{OH} \end{array}$	Solide blanc très bien cristallisé P. M. = 217 PF = 42°C

Sorbate de tri éthanol ammonium $\text{CH}_3 - (\text{CH} = \text{CH})_2 - \text{COO} - \text{N} \begin{array}{l} \diagup \text{CH}_2 - \text{CH}_2\text{OH} \\ \text{CH}_2 - \text{CH}_2\text{OH} \\ \diagdown \text{CH}_2 - \text{CH}_2\text{OH} \\ \text{H} \end{array}$	Solide brun rouge P.M. = 261 PF = 74°C
Sorbate de mono isopropanol ammonium $\text{CH}_3 - (\text{CH} = \text{CH})_2 - \text{COO} - \text{N} \begin{array}{l} \diagup \text{H} \\ \text{H} \\ \diagdown \text{CH}_2 - \text{CHOH} \\ \text{CH}_3 \end{array}$	Solide blanc P.M. = 187 PF = 74,5°C
Sorbate de di isopropanol ammonium $\text{CH}_3 - (\text{CH} = \text{CH})_2 - \text{COO} - \text{N} \begin{array}{l} \diagup \text{H} \\ \text{H} \\ \diagdown \text{CH}_2 - \text{CHOH} \\ \text{CH}_3 \end{array}$	Liquide visqueux Jaune ambre P.M. = 245
Sorbate de tri isopropanol ammonium $\text{CH}_3 - (\text{CH} = \text{CH})_2 - \text{COO} - \text{N} \begin{array}{l} \diagup \text{CH}_2 - \text{CHOH} - \text{CH}_3 \\ \text{CH}_2 - \text{CHOH} - \text{CH}_3 \\ \diagdown \text{CH}_2 - \text{CHOH} - \text{CH}_3 \\ \text{H} \end{array}$	Liquide très visqueux Jaune clair P.M. = 303
Sorbate de monométhyl éthanol ammonium $\text{CH}_3 - (\text{CH} = \text{CH})_2 - \text{COO} - \text{N} \begin{array}{l} \diagup \text{H} \\ \text{CH}_3 \\ \diagdown \text{CH}_2 - \text{CH}_2\text{OH} \\ \text{H} \end{array}$	Liquide brun P.M. = 187

Sorbate de monométhyl diéthanol ammonium $\text{CH}_3-(\text{CH}=\text{CH})_2-\text{COO}-\text{N}\begin{array}{l} \text{CH}_3 \\ \text{CH}_2-\text{CH}_2\text{OH} \\ \text{CH}_2-\text{CH}_2\text{OH} \\ \text{H} \end{array}$	Liquide brun clair P.M. = 231
Sorbate de diméthyl monoéthanol ammonium $\text{CH}_3-(\text{CH}=\text{CH})_2-\text{COO}-\text{N}\begin{array}{l} \text{CH}_3 \\ \text{CH}_3 \\ \text{CH}_2-\text{CH}_2\text{OH} \\ \text{H} \end{array}$	Liquide brun assez vis- queux P.M. = 201
Sorbate de diéthyl monoéthanol ammonium $\text{CH}_3-(\text{CH}=\text{CH})_2-\text{COO}-\text{N}\begin{array}{l} \text{C}_2\text{H}_5 \\ \text{C}_2\text{H}_5 \\ \text{CH}_2-\text{CH}_2\text{OH} \\ \text{H} \end{array}$	Liquide brun P.M. = 229
Sorbate de morpholinium $\text{CH}_3-(\text{CH}=\text{CH})_2-\text{COO}-\text{N}\begin{array}{l} \text{H} \\ \text{O} \\ \text{H} \end{array}$	Solide blanc bien cristallisé P.M. = 199 PF = 143°C
Sorbate de phényl éthanol ammonium $\text{CH}_3-(\text{CH}=\text{CH})_2-\text{COO}-\text{N}\begin{array}{l} \text{C}_6\text{H}_5 \\ \text{H} \\ \text{CH}_2-\text{CH}_2\text{OH} \\ \text{H} \end{array}$	Solide blanc ayant tendance à se liquéfier P.M. = 249

Stabilité :

Nous avons déjà indiqué la très grande hygroscopicité de ces produits. En pratique, il est préférable de les obtenir et de les employer sous forme de solutions aqueuses ou alcooliques concentrées, par exemple à 50 %.

Ces solutions sont légèrement brunes, mais les spectres UV ne semblent pas indiquer d'oxydation en sel de l'acide dihydroxydihydrosorbique.

Les essais d'activité antifongique ne nous ayant pas parus particulièrement encourageants, nous n'avons pas poursuivi plus avant l'étude chimique de ce groupe de dérivés de l'acide sorbique.

CHAPITRE II

Dérivés bloquant la Fonction Acide

Après avoir préparé les sels de l'acide sorbique, nous avons essayé de bloquer la fonction acide par divers alcools simples ou plus ou moins substitués, puis par des amines.

Le but poursuivi était d'augmenter l'action antifongique de l'acide sorbique en faisant varier : le poids moléculaire, le volume moléculaire, la solubilité, le coefficient de partage et la polarité de la molécule.

LES ESTERS

Les esters que nous avons préparés appartiennent aux cinq groupes suivants :

- Esters de monoalcools

Nous avons utilisé les principaux alcools de la série grasse normale, de la série iso jusqu'en C₅, puis des alcools plus lourds en C₁₂, C₁₄ et C₁₆. Ceci doit nous permettre d'augmenter beaucoup la solubilité dans les lipides. Nous avons également préparé le sorbate de cyclohexyle, comme exemple d'esters d'alcools alicycliques. Parmi les alcools cycliques à caractère aromatique, nous avons choisi l'alcool furfurylique étant données les propriétés antiseptiques connues de bien des dérivés du furanne.

- Esters de polyols

Nous avons cherché à obtenir les monoesters de polyols pour augmenter le caractère polaire et hydrophile par rapport aux esters d'alcools simples. Le radical ascorbyle en particulier nous a paru intéressant à priori car l'acide ascorbique et ses esters sont employés comme agents protecteurs contre l'auto-oxydation.

- Esters d'alcools chlorés

L'introduction d'atomes d'halogènes augmente souvent l'action antiseptique. Nous n'avons essayé que les dérivés mono et dichlorés de polyols.

- Esters de thioalcools

Les esters de thioglycol ou du thio diéthylène glycol sont des esters de polyols dont un atome d'oxygène est remplacé par un atome de soufre. Leurs propriétés devraient être sensiblement les mêmes que celles des esters de polyols, mais l'introduction de l'atome de soufre peut être intéressante pour augmenter les propriétés antiseptiques.

- Esters d'aminoalcools

Le caractère basique de la substitution aminée nous permettra de solubiliser ces produits, au moins en milieu acide.

A) Esters de monoalcools

En 1922, DOEBNER et WOLFF obtinrent les sorbates de méthyle et d'éthyle par action du chlorure de sorboyle sur les alcools méthylique ou éthylique glacés, traitement du produit par de la soude, puis lavage de l'ester à l'eau glacée.

En 1938, KUHN et GRUNDMANN préparèrent le sorbate de méthyle à partir de l'acide sorbique et du diazométhane.

VORLÄNDER, WEISSHEIMER, SPONNAGEL obtinrent le sorbate d'éthyle par chauffage de 5 heures de l'acide et de l'alcool en présence d'acide chlorhydrique.

AUWERS utilisa l'action du sorbate d'argent sur l'iodure d'éthyle.

En 1938 également, HEINÄNEN avait préparé les sorbates de méthyle, éthyle, propyle et butyle par action de l'acide sorbique sur l'alcool en excès en présence d'acide sulfurique. Le mélange était porté à ébullition à reflux pendant 4 à 5 heures. Après lavage à l'eau et extraction de l'ester à l'éther sulfurique, l'excès d'acide sorbique était neutralisé par du carbonate de soude. L'extract éthéré était ensuite séché sur sulfate de soude anhydre, l'éther était évaporé sous une hotte, et le mélange alcool ester distillé sous pression réduite.

WHEELER en 1948 préconisa l'emploi d'acide paratoluène sulfonique comme catalyseur d'estérification.

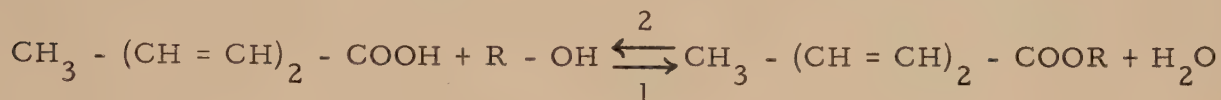
En 1949, RIGG et ROSENTHAL préférèrent dissoudre au préalable l'acide sorbique dans le benzène.

Préparation :

1 - Estérification directe :

Le mode classique de préparation des esters consiste à faire réagir un acide sur un alcool avec élimination d'eau.

La réaction peut s'écrire :



Cette réaction d'estérification est limitée par la réaction inverse et tend vers un équilibre. Pour favoriser la réaction 1, nous nous sommes efforcé d'éliminer l'eau au fur et à mesure de sa formation.

Dans la plupart des préparations des esters, nous avons dissous l'acide sorbique dans un solvant comme le benzène ou le xylène ; ensuite, nous avons ajouté au mélange homogène l'alcool redistillé, puis de l'hydroquinone et de l'acide paratoluène sulfonique. Nous avons intercalé entre le ballon et le réfrigérant à reflux un appareil de Dean-Stark. Le mélange était porté à l'ébullition jusqu'à élimination de la quantité théorique d'eau attendue. Enfin, le solvant était déplacé par distillation. Après refroidissement, le mélange était lavé à l'eau, distillé, puis extrait à l'éther.

La solution étherée était lavée au carbonate de soude pour neutraliser l'excès d'acide sorbique et d'acide para toluène sulfonique résiduels.

Après un nouveau lavage à l'eau, on séchait l'extrait étheré sur sulfate de soude anhydre ; on évaporait l'éther et finalement l'ester était séparé par distillation sous pression réduite en présence d'une trace d'hydroquinone.

Cette méthode générale a dû subir quelques variantes pour certains esters particuliers.

Le choix du solvant (benzène, xylène, toluène) est fonction de la température d'ébullition de l'ester attendu. Ce choix est important car la vitesse de la réaction dépend de la température.

Dans chaque préparation, nous avons ajouté un peu d'hydroquinone afin d'éviter une polymérisation de l'acide sorbique ou de ses esters.

2 - Par l'intermédiaire du chlorure d'acide :

La réaction peut s'écrire ainsi :



Le chlorure de sorboyle nous ayant servi de point de départ pour de nombreuses synthèses, nous avons jugé utile d'indiquer ici ses différents modes de préparation et ses propriétés.

Le chlorure de sorboyle, de formule générale :



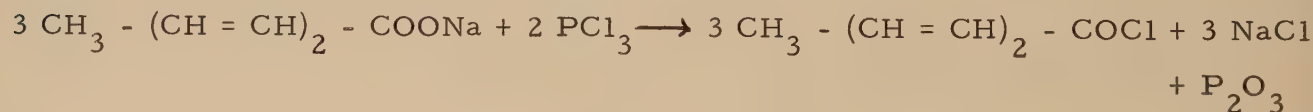
a été préparé par de nombreux auteurs.

- HOFMANN, DOEBNER et WOLFF, RIEDEL et SCHULZ, AUWERS et HEYNA ainsi que HEINÄNEN préparent le chlorure de sorboyle par action du pentachlorure de phosphore sur l'acide sorbique.



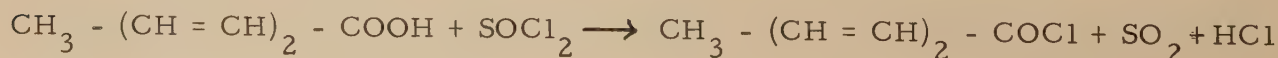
Nous avons préparé le chlorure de sorboyle de cette manière ; on place dans un mortier 1/10 de mole, soit 11,20 g, d'acide sorbique et 1/10 de mole de PCl_5 , soit 20,80 g. On broie énergiquement, puis on place le mélange dans un ballon et on distille sous pression réduite afin de séparer l'oxychlorure de phosphore du chlorure de sorboyle et des traces de pentachlorure de phosphore. Cette séparation est assez délicate à suivre et ce mode de préparation est très désagréable à mettre en oeuvre par quantités plus importantes.

- RUPE et SCHAEERER indiquent un autre mode de préparation : ils font agir du sorbate de sodium sec dans l'éther sur du trichlorure de phosphore qui est ajouté peu à peu à la suspension précédente. Par distillation, ils séparent le chlorure de sorboyle.



- STANDINGER et SCHNEIDER font agir du chlorure de thionyle sur de l'acide sorbique en solution dans le benzène. Ils portent à ébullition et distillent pour obtenir le chlorure de sorboyle.

A priori, cette méthode paraît plus intéressante puisque les sous-produits de la réaction sont volatils (SO_2 et HCl).



A la distillation, il reste à éliminer l'excès de chlorure de thionyle.

Cette manipulation se fait de préférence sous la hotte.

Après avoir essayé cette méthode, il nous a paru plus simple et tout aussi rentable de faire agir directement le chlorure de thionyle sur l'acide sorbique sans solvant. On peut faire tomber peu à peu l'acide sorbique en poudre dans le chlorure de thionyle à froid, puis chauffer légèrement pour terminer la réaction, mais il est encore plus facile d'opérer en sens inverse ; le rendement n'est pas abaissé.

Dans un réacteur muni d'un agitateur, d'une ampoule à brôme et d'un tube à dégagement plongeant dans un bécher contenant de l'eau, on place une mole d'acide sorbique ; l'agitation étant maintenue pendant la réaction, on ajoute goutte à goutte en 1 heure, au moyen de l'ampoule à brôme, 1,5 à 2 molécules de chlorure de thionyle redistillé (un excès de chlorure de thionyle permet d'obtenir un meilleur rendement en chlorure de sorboyle).

La réaction commence à froid. Lorsque tout le chlorure de thionyle a été introduit, on chauffe légèrement pendant 1 heure pour compléter la réaction. Puis on laisse refroidir, et on distille sous vide. Dans un premier temps, le chlorure de thionyle en excès est éliminé, puis le chlorure de sorboyle passe à une température de 96°C sous une pression de 40 mm.

Le chlorure de sorboyle est un liquide limpide, jaune très pâle, à odeur caractéristique des chlorures d'acides. Ce produit ne se conserve pas très bien, même en flacon bouché, car il est très avide d'eau et il se décompose en donnant de l'acide sorbique et de l'acide chlorhydrique. Il est donc préférable de le préparer extemporanément afin d'éviter toute altération.

Redistillé sous une pression de 8 mm, le chlorure de sorboyle passe à une température de 70° et bout sous la pression atmosphérique à une température de 183°.

HEINÄNEN indique certaines températures d'ébullition sous des pressions différentes :

$$\text{Eb}_{16} = 78^{\circ} \quad ; \quad \text{Eb}_{22} = 82^{\circ}$$

STANDINGER et SCHNEIDER donnent :

$$\text{Eb}_{12} = 69 - 71^{\circ}$$

AUWERS et HEYNA

$$Eb_{14} = 78 - 79^{\circ}$$

et DOEBNER et WOLFF

$$Eb_8 = 70^{\circ} \quad ; \quad Eb_{15} = 78^{\circ} \quad ; \quad Eb_{40} = 96^{\circ}$$

Pour notre part, nous avons trouvé :

$$Eb_8 = 70^{\circ} \quad ; \quad Eb_{40} = 96^{\circ}$$

Nous avons mesuré la densité et l'indice de réfraction du chlorure de sorboyle et nous avons obtenu les valeurs suivantes :

$$D_4^{20} = 1,0666$$

$$n_D^{20} = 1,5535$$

ce qui donne une réfraction moléculaire : $Rm = \frac{n^2 - 1}{n^2 + 2} \times \frac{M}{D}$

$$Rm = 0,320246 \times \frac{130,5}{1,0666} = 39,18$$

La réfraction moléculaire calculée est : $Rm = 33,85$.

On a donc pour l'incrément de conjugaison :

$$\Delta R = 39,18 - 33,85 = 5,33$$

AUWERS et HEYNA ont donné les valeurs suivantes :

$$D_4^{18,75} = 1,0666$$

$$n_{\alpha}^{18,75} = 1,5471 \quad ; \quad n_{He}^{18,75} = 1,5571 \quad ; \quad n_{\beta}^{18,75} = 1,5845$$

En nous inspirant de la méthode de DOEBNER et WOLFF, nous avons préparé les esters de monoalcools à l'aide du chlorure de sorboyle, mais nous avons préféré terminer la synthèse à chaud.

Dans un ballon tricol muni d'un agitateur, d'une ampoule à brôme contenant le chlorure de sorboyle et d'un réfrigérant à reflux, nous plaçons l'alcool à estérifier et nous versons doucement le chlorure de sorboyle ; quand tout ce dernier a été introduit, nous chauffons à reflux pendant 1 à 2 heures afin d'éliminer le SO_2 et le HCl formés.

Après refroidissement, nous lavons à l'eau le mélange ester alcool. Puis nous extrayons l'ester à l'éther rectifié, après neutralisation des acides par du carbonate de soude ; nous séchons l'extrait étheré sur sulfate de soude anhydre. Après évaporation de l'éther sous la hotte, nous distillons l'ester sorbique sous pression réduite.

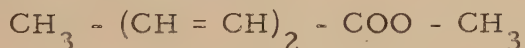
Par cette méthode, nous avons obtenu des esters avec un rendement de l'ordre de 70 %.

Si cette réaction plus rapide donne un rendement apparent supérieur à celui obtenu dans l'estérification directe, elle présente cependant un inconvénient car il faut chaque fois redistiller le chlorure de sorboyle et le rendement général de l'opération diminue.

Cependant, nous avons toujours préparé simultanément les esters par ces deux méthodes, ce qui nous a permis de comparer les produits obtenus et de confirmer leurs caractéristiques.

C'est ainsi que nous avons préparé les sorbates de méthyle, éthyle, propyle et isopropyle, butyle et isobutyle, isoamyle, lauryle, myristyle et cétyle, cyclohexyle et furfuryle. Nous indiquerons pour chacun de ces produits les variantes de préparation et leurs propriétés physiques.

Sorbate de méthyle



P. M. = 126

Le sorbate de méthyle a été préparé tout d'abord par estérification directe entre l'alcool méthylique et l'acide sorbique en solution dans le benzène, en présence d'acide para toluène sulfonique et d'hydroquinone. L'entraînement de l'eau par les vapeurs de solvant (benzène ou xylène) dans le séparateur de Dean Stark se fait très mal et nous avons éliminé l'eau au fur et à mesure de sa formation par passage sur sulfate de cuivre anhydre. On aurait pu craindre une influence néfaste du cuivre sur le rendement (par effet catalytique sur une oxydation éventuelle de l'acide sorbique ou de l'ester) mais nous avons vu que le sorbate de cuivre était au contraire un produit très stable et nous avons adopté la technique suivante : le ballon était surmonté d'un appareil de Soxhlet muni d'une cartouche chargée de sulfate de cuivre anhydre.

Ainsi, il était facile de suivre l'estérification, le sulfate de cuivre anhydre, blanc, se réhydratant en bleu.

Après les lavages, la neutralisation et le séchage précédemment indiqués, nous avons distillé sous une pression de 2 mm et obtenu un

liquide jaune pâle à odeur d'anis qui passait à 36°C (rendement : 60 %).

D'autre part, nous avons synthétisé le sorbate de méthyle par l'intermédiaire du chlorure de sorboyle selon la méthode générale indiquée plus haut (rendement : 68 %).

Enfin, nous avons préparé un méthylate de sodium sur lequel nous avons fait réagir le chlorure de sorboyle en solution dans l'alcool méthylique, à froid d'abord, puis en terminant par une ébullition à reflux. Le rendement de l'opération atteignait dans ce cas 80 %.

Nous avons vérifié la pureté de notre produit par chromatographie en phase gazeuse sur colonne d'Apiezon et nous avons trouvé moins de 4 % d'impuretés après une seule distillation.

Le poids moléculaire déterminé à partir de l'indice de saponification était d'ailleurs de 130 pour 126.

Le dosage de l'acide sorbique par spectrophotométrie U.V. nous donnait une teneur en sorbate de méthyle de 97 %.

Ce produit, au bout d'un an de préparation, ne présentait aucune altération, en particulier pas de pic à 2160 Å° dans le spectre ultraviolet, ce qui aurait traduit une oxydation ou une polymérisation sur la double liaison Δ₄₋₅. D'une façon générale, les spectres ultraviolets des esters sorbiques sont très voisins de celui de l'acide sorbique non dissocié (en milieu très acide) ; ceci indique que le remplacement de l'hydrogène acide par un radical organique saturé n'influence que très peu le chromophore. On est donc en droit de doser ces esters sorbiques en se référant au spectre de l'acide sorbique non dissocié.

Le sorbate de méthyle est un liquide jaune pâle, à odeur d'anis. Ses caractéristiques physiques sont les suivantes :

$$D_4^{22,7} = 0,9918$$

$$Eb_{760} = 182^{\circ}\text{C}$$

$$n_D^{20} = 1,4960$$

$$R_m = 37,11$$

La réfraction moléculaire calculée est de 35,24, ce qui donne un incrément de conjugaison $\Delta R = 1,87$.

Dans la littérature, nous avons trouvé :

HEILBRON, JONES et O'SULLIVAN :

$$Eb_{35} = 90^\circ$$

$$n_D^{22} = 1,5025$$

KOHLER et BUTLER :

$$Eb_{20} = 83 - 85^\circ$$

WHEELER :

$$Eb_{12} = 60^\circ$$

$$n_D^{30} = 1,4984$$

FARMER, MORRISON et JONES :

$$D_4^{16} = 0,9620 \quad ; \quad n_D^{16} = 1,5066$$

$$Rm = 38,91 \quad ; \quad \Delta R = 3,67$$

HEINÄNEN :

$$Eb_{18} = 78,5^\circ$$

$$D_4^{21,4} = 0,9764 \quad ; \quad n_D^{21,4} = 1,5020$$

$$Rm = 38,11 \quad ; \quad \Delta R = 2,84$$

DOEBNER et WOLFF :

$$F = 5^\circ \quad ; \quad Eb_{20} = 70^\circ \quad ; \quad Eb_{760} = 174^\circ$$

POSNER et RHODE :

$$Eb_{759} = 180^\circ$$

Le sorbate de méthyle est miscible à l'alcool, l'acétone, le benzène, le xylène, le toluène et l'éther. Par contre, sa solubilité dans l'eau à 20° atteint seulement 0,30 %.

HEINÄNEN a étudié la vitesse de l'oxydation du sorbate de méthyle dans diverses conditions.

L'oxydation par l'oxygène dans le benzène conduit aux stades acétaldéhyde et fumarate de méthyle avec en plus un peu de CO₂ et d'acide oxalique.

Par introduction en 4 jours d'acide perbenzoïque dans une solution chloroformique à 0°, il obtient l'époxydation en 4-5.

Pour notre part, nous n'avons jamais constaté d'altération par oxydation du sorbate de méthyle conservé sans précaution spéciale en flacon bouché. Compte tenu des travaux d'HEINÄNEN, il est cependant plus prudent, surtout pour une conservation de longue durée, de l'additionner d'une trace d'hydroquinone ou d'un autre antioxydant (BHT, BHA, etc ...).

Sorbate d'éthyle



Le sorbate d'éthyle a été préparé de façon analogue au sorbate de méthyle, c'est-à-dire :

- par estérification directe en captant l'eau formée dans la réaction sur du sulfate de cuivre anhydre.
- par action du chlorure de sorboyle sur l'alcool éthylique.
- selon la méthode préconisée par HEINÄNEN et indiquée précédemment en maintenant à ébullition à reflux l'acide sorbique dans un excès d'alcool absolu en présence d'acide sulfurique.

Par cette dernière méthode, nous avons obtenu un rendement de l'ordre de 30 % seulement.

Le sorbate d'éthyle est un liquide jaune pâle, d'une odeur agréable, qui bout à 195° sous la pression atmosphérique (195,5° HOFFMANN).

Après une seule distillation, par l'intermédiaire de la chromatographie en phase gazeuse, nous trouvons moins de 2 % d'impuretés dans ce produit ; par spectrophotométrie U.V., nous arrivons à une teneur de 98,10 % en sorbate d'éthyle.

Le poids moléculaire, déterminé par saponification, est de 142 au lieu de 140.

Notre produit distille sous une pression résiduelle de 16 mm à une température de 86°.

HEINANEN : $Eb_{13} = 82,5^{\circ}$

KUHN : $Eb_{11} = 81,5^{\circ}$

VORLANDER, WEISSHEIMER, SPONNAGEL : $Eb_{20} = 85^{\circ}$

AUWERS : $Eb_{12} = 76,5^{\circ}$; $Eb_{14} = 76^{\circ}$; $Eb_{15} = 81^{\circ}$

La densité et l'indice de réfraction du sorbate d'éthyle ont les valeurs suivantes :

$$D_4^{20,5} = 0,9287$$

$$n_D^{20,5} = 1,4925$$

d'où $R_m = 43,88$

La réfraction moléculaire calculée est 39,72, ce qui conduit à un incrément de conjugaison de :

$$\Delta R = 43,88 - 39,72 = 4,16$$

Les données de la littérature sont les suivantes :

HEINANEN :

$$D_4^{21} = 0,9497 \quad ; \quad n_D^{21} = 1,4927$$

$$R_m = 42,85 \quad ; \quad \Delta R = 3,13$$

AUWERS et EISENLOHR :

$$D_4^{20} = 0,9560 \quad ; \quad n_D^{20} = 1,502$$

$$R_m = 42,74 \quad ; \quad \Delta R = 3,02$$

$$n_{\alpha}^{20} = 1,4955 \quad ; \quad n_{\beta}^{20} = 1,52 \quad ; \quad n_{\gamma}^{20} = 1,5366$$

$$D_4^{15,25} = 0,9405 \quad ; \quad n_{\alpha}^{15,25} = 1,4915 \quad ; \quad n_{He}^{15,25} = 1,4978 \quad ; \quad n_{\beta}^{15,25} = 1,5140$$

$$R_m = 43,48 \quad ; \quad \Delta R = 3,76$$

Comme le sorbate de méthyle, le sorbate d'éthyle est miscible à l'alcool, à l'éther et aux solvants organiques, mais, sa solubilité dans l'eau est encore plus faible : 0,15 % à 20°.

HEINÄNEN a étudié la vitesse de l'oxydation du sorbate d'éthyle dans différentes conditions et a obtenu des résultats semblables à ceux qu'il avait observés avec le sorbate de méthyle.

C'est un liquide jaune pâle que nous avons conservé sans altération pendant un an en flacon bien bouché.

Les autres sorbates de monoalcools :

Au delà du sorbate d'éthyle, nous avons préparé tous les autres esters sorbiques de façon identique :

- Par estérification directe.

Après dissolution de l'acide sorbique dans du xylène, on ajoute l'acide paratoluène sulfonique, l'hydroquinone et l'alcool correspondant à l'ester désiré. Le ballon est équipé d'un appareil de Dean Stark et d'un réfrigérant à reflux. Le mélange est chauffé à la température d'ébullition pendant un temps variant de 2 à 5 heures. L'eau est éliminée par entraînement azéotropique avec les vapeurs de xylène et condensée dans l'appareil de Dean Stark. Après lavage, neutralisation, évaporation du solvant, extraction à l'éther, séchage sur sulfate de soude anhydre, le sorbate est distillé sous pression réduite.

- Par action du chlorure de sorboyle sur l'alcool absolu correspondant.

Le rendement de ces préparations était voisin de 70 %.

Les esters sorbiques sont des liquides à odeur de moins en moins agréable au fur et à mesure que l'on augmente la teneur en carbone.

Nous indiquerons pour chacun des esters préparés les caractéristiques physiques que nous avons pu déterminer.

Le Sorbate de propyle : $\text{CH}_3 - (\text{CH} = \text{CH})_2 - \text{COO} - \text{C}_3\text{H}_7$, PM = 154.

Le sorbate de propyle est un liquide jaune pâle à odeur très agréable qui bout à 208° sous la pression atmosphérique.

Ce sorbate a été obtenu avec un degré de pureté satisfaisant :

98,3 % en sorbate (par spectrophotométrie U.V.)
moins de 2 % d'impuretés (par chromatographie gazeuse)
PM trouvé : 155 (par indice de saponification)
 $\text{Eb}_{16} = 100^\circ$; HEINÄNEN indique $\text{Eb}_{10} = 86^\circ$

Nous avons trouvé pour la densité et l'indice de réfraction de ce liquide :

$$\text{D}_4^{20} = 0,9227 \quad \text{et} \quad \text{n}_D^{20} = 1,4898$$

alors que HEINÄNEN donne :

$$\text{D}_4^{20} = 0,9261 \quad \text{et} \quad \text{n}_D^{18} = 1,4872$$

La réfraction moléculaire calculée est : 44,48.

Nous avons trouvé, d'après nos déterminations :

$$\text{Rm} = 48,25 \quad \text{et} \quad \Delta\text{R} = 3,77$$

et d'après celles de HEINÄNEN :

$$\text{Rm} = 47,82 \quad \text{et} \quad \Delta\text{R} = 3,33$$

Conservé sur hydroquinone, le sorbate de propyle est très stable. Il est soluble dans l'alcool, l'éther et les solvants organiques ; sa solubilité dans l'eau à 20° est de 0,12 %.

Le Sorbate d'isopropyle : $\text{CH}_3 - (\text{CH} = \text{CH})_2 - \text{COO} - \text{CH} \begin{array}{l} \text{CH}_3 \\ \text{CH}_3 \end{array}$
PM = 154

Le sorbate d'isopropyle ne semble pas avoir été préparé précédemment. C'est un liquide très faiblement coloré, d'odeur sensiblement identique à celle de son isomère à chaîne droite.

Il bout, sous la pression atmosphérique, à une température inférieure à celle du sorbate de propyle.

$$Eb_{760} = 190^{\circ}$$

Après une distillation, nous obtenons un produit à 97 % de pureté ; à la seconde distillation, la pureté du sorbate d'isopropyle passe à 99 %. Ceci est confirmé par spectrophotométrie U.V. et chromatographie en phase gazeuse.

Le poids moléculaire trouvé est de 154,8.

$$Eb_{16} = 94^{\circ} \quad ; \quad Eb_2 = 44^{\circ}$$

La densité et l'indice de réfraction trouvés sont :

$$D_4^{22,7} = 0,92098 \quad ; \quad n_D^{22,7} = 1,4845$$

D'où $R_m = 47,83$ (R_m calculée = 44,48), par suite $\Delta R = 3,35$.

Sa solubilité dans l'eau à 20° est de 0,48 %.

Le sorbate de butyle : $CH_3 - (CH = CH)_2 - COO - C_4H_9$ PM = 168

HEINÄNEN avait préparé cet ester sorbique.

C'est un liquide jaune pâle, à odeur agréable.

Il bout sous la pression atmosphérique à 233° .

La pureté de l'échantillon obtenu est de 98,7 % après deux distillations.

Le poids moléculaire trouvé est de 169.

$$Eb_{20} = 123^{\circ} \quad ; \quad \text{HEINÄNEN indique} \quad : \quad Eb_{16} = 115^{\circ}.$$

Comme densité et indice de réfraction, nous avons :

$$D_4^{22,7} = 0,9257 \quad ; \quad n_D^{22,7} = 1,487$$

$$R_m = 52,193 \quad ; \quad \Delta R = 3,09$$

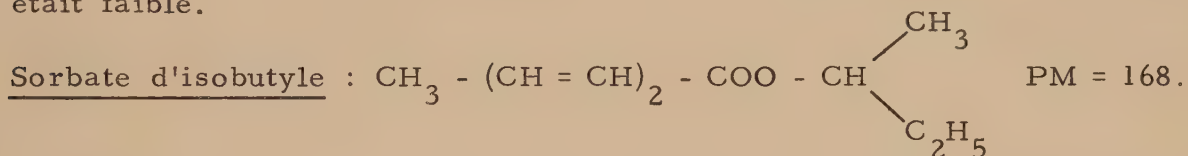
HEINÄNEN mentionne :

$$D_4^{16} = 0,9196 \quad ; \quad n_D^{16} = 1,4898$$

$$R_m = 52,84 \quad ; \quad \Delta R = 3,74$$

La solubilité dans l'eau à 20° est très faible : 0,05 %.

Signalons que nous avons préparé du sorbate de butyle par action du borate de butyle sur l'acide sorbique en solution dans le xylène ; nous avons obtenu un produit très pur, mais le rendement de l'opération était faible.



Il semble qu'aucun des esters que nous allons étudier maintenant n'ait été préparé au préalable.

Le sorbate d'isobutyle est un liquide jaune pâle qui bout sous la pression atmosphérique à 224°.

La pureté de l'échantillon obtenu est de 98 %.

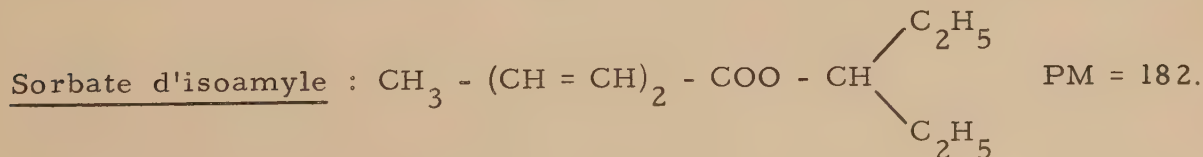
Le poids moléculaire trouvé est 170.

$$\text{Eb}_2 = 80^\circ$$

$$D_4^{24} = 0,9028 \quad ; \quad n_D^{24} = 1,4811$$

$$R_m = 52,95 \quad (\text{R}_m \text{ calculée} = 49,10), \text{ d'où } \Delta R = 3,85.$$

Il est très peu soluble dans l'eau.



C'est un liquide jaune pâle à odeur agréable.

$$\text{Eb}_{760} = 244^\circ$$

La pureté de l'échantillon est de 97,8 %.

Le poids moléculaire trouvé est 184.

$$Eb_2 = 106^\circ$$

$$Eb_5 = 121^\circ$$

$$D_4^{24} = 0,9009 \quad ; \quad n_D^{24} = 1,4801$$

$$Rm = 57,39 \quad (Rm \text{ calculée} = 53,718), \quad \Delta R = 3,67.$$

L'un des échantillons que nous avons préparés s'étant oxydé et polymérisé au bout d'un an, nous avons constaté la présence d'un pic à 2160 Å sur le spectre U. V. (Nous l'avons indiqué lors de la discussion sur la stabilité du sorbate de zinc). Ceci correspond à la disparition de la double liaison Δ 4-5.

Sorbates de lauryle et de myristyle :

Les sorbates de lauryle et myristyle ont été préparés à partir des alcools laurylique et myristylique commercialisés sous le nom d'Alfol 12 et Alfol 14. Ces alcools sont préparés par le procédé "oxo" avec une pureté de l'ordre de 95 %.

Les sorbates obtenus sont d'une pureté de l'ordre de 90 % en sorbate (spectrophotométrie U. V.). Nous n'avons pas pu les passer à la chromatographie en phase gazeuse car leur température d'ébullition était trop élevée.



(PM = 280) se présente comme un liquide jaune très foncé et bout à 233° sous la pression atmosphérique.

$$Eb_1 = 135^\circ$$

$$D_4^{20} = 0,8875 \quad ; \quad n_D^{20} = 1,4788$$

$$Rm = 89,46 \quad ; \quad Rm \text{ calculée} = 86,04 \quad ; \quad \Delta R = 3,42$$

Il est soluble dans l'alcool, l'éther et les solvants organiques, insoluble dans l'eau.

Le sorbate de myristyle : $\text{CH}_3 - (\text{CH} = \text{CH})_2 - \text{COO} - (\text{CH}_2)_{13} - \text{CH}_3$

(PM = 308), est un liquide légèrement brun qui bout à 309° sous la pression atmosphérique.

$$\text{Eb}_1 = 168^\circ$$

$$D_4^{20} = 0,79695 \quad ; \quad n_D^{20} = 1,4433$$

$$\text{Rm} = 102,45 \quad ; \quad \text{Rm calculée} = 95,27 \text{ (pour un sorbate pur)}$$

Le $\Delta R = 7,18$, anormalement élevé, semble indiquer que notre alcool myristylique de départ n'était pas suffisamment pur et renfermait d'autres alcools voisins.

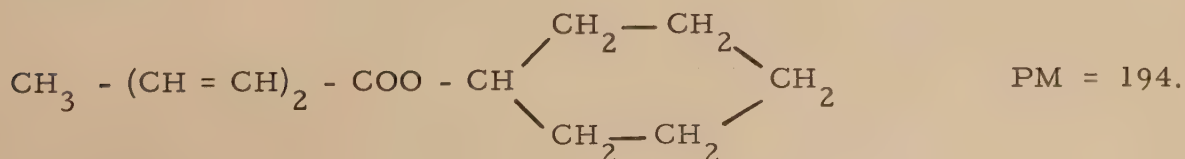
Les sorbates obtenus sont solubles dans l'alcool, l'éther et les solvants organiques et insolubles dans l'eau.

Nous avons essayé de préparer le sorbate de cétyle mais l'alcool cétylique était très impur et nous avons obtenu un mélange de sorbates de lauryle, myristyle et cétyle en différentes proportions ; nous ne pouvons donc pas indiquer ici ses constantes physiques.

Tous ces esters sorbiques ont été essayés du point de vue antifongique ; certains se sont montrés très intéressants, notamment les sorbates de méthyle, éthyle et propyle, mais le pouvoir antifongique diminuait lorsqu'on augmentait la condensation en carbone. C'est pourquoi nous nous sommes appliqué surtout à obtenir très purs les premiers termes de ces esters.

Sorbate de cyclohexyle :

Le sorbate de cyclohexyle est un ester d'alcool alicyclique, le cyclohexanol.



Cet ester a été préparé de façon analogue aux esters d'alcools aliphatiques :

- Par estérification de l'acide sorbique par le cyclohexanol, et entraînement de l'eau par les vapeurs de xylène dans un Dean Stark, lavage, neutralisation et distillation sous vide.

- Par action du chlorure de sorboyle sur le cyclohexanol.

C'est un liquide incolore à odeur balsamique qui bout sous la pression atmosphérique à 290°.

Nous l'avons obtenu avec une pureté de l'ordre de 96 %, après une seule distillation sous pression réduite.

Le sorbate de cyclohexyle passe à 108° sous 5 mm.

Nous avons déterminé sa densité et son indice de réfraction.

$$D_4^{23} = 0,9667 \quad ; \quad n_D^{23} = 1,5121$$

$$R_m = 60,21 \quad ; \quad R_m \text{ calculée} = 56,13 \quad ; \quad \Delta R = 4,08$$

Ce produit est stable et nous l'avons conservé un an sur hydroquinone sans altération.

Sorbate de furfuryle :

Nous avons choisi l'alcool furfurylique comme exemple d'alcool cyclique à caractère aromatique :

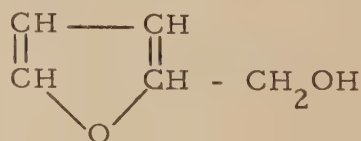
- d'une part à cause des propriétés antiseptiques connues de certains dérivés de furanne,

- d'autre part parce qu'on doublait ainsi la condensation en carbone par rapport à l'acide sorbique,

- et enfin parce qu'on ajoutait un second système de doubles liaisons conjuguées très voisin de celui de l'acide sorbique.

On doit donc réaliser ainsi une sorte de duplication moléculaire.

L'alcool furfurylique, de formule générale :



a été préparé au laboratoire à partir du furfural par réaction de Cannizaro, ce qui nous a permis d'effectuer nos premiers essais et d'obtenir simultanément l'acide furoïque, plus ou moins analogue à l'acide sorbique, pour des études ultérieures.



Ensuite, l'alcool furfurylique nous a été fourni par les Usines de Melle.

L'alcool furfurylique est un liquide jaune pâle qui se polymérise facilement sous l'influence de la chaleur ou de catalyseurs acides. Il bout à 169° sous la pression atmosphérique. La structure hétérocyclique, les deux doubles liaisons et le groupement hydroxyméthylé de l'alcool furfurylique expliquent ses nombreuses possibilités de combinaisons.

Les acides minéraux, ainsi que les acides organiques forts provoquent dans l'alcool furfurylique une réaction de polymérisation exothermique violente. Si cette propriété est intéressante dans l'industrie pour faire des résines, elle présentait pour nous un gros inconvénient dans la préparation du sorbate de furfuryle.

Il était facile de prévoir que l'estérification de l'alcool furfurylique par l'acide sorbique en présence d'acide para toluène sulfonique ne donnerait en effet que des résines.

- Aussi avons-nous d'abord essayé une technique en milieu tamponné par du sorbate de potassium.

Dans un ballon muni d'un piège de Dean Stark et d'un réfrigérant à reflux, on place :

175 ml de benzène
33,60 g d'acide sorbique (3M/10)
15 g de sorbate de potassium (M/10)
20 g d'alcool furfurylique (2M/10)

Le sorbate de potassium se dissout très mal et le milieu doit être agité sans arrêt en maintenant le reflux pendant 6 heures.

Après lavage à l'eau bicarbonatée, puis séchage de la couche benzénique sur sulfate de soude anhydre, on distille sous vide : on élimine

d'abord le benzène et on obtient ensuite l'ester, mais en très faible quantité.

- Nous avons alors essayé de faire une estérification de l'acide sorbique par l'alcool furfurylique en présence de résines échangeuses d'ions, du type Amberlite I.R. 120. Nous avons obtenu du sorbate de furfuryle avec un rendement de 10 % seulement.

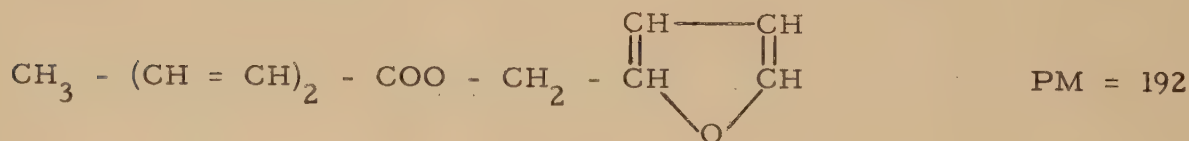
- Notre meilleure méthode de préparation a été finalement la suivante : On dissout 30 g d'alcool furfurylique dans 100 ml de pyridine sèche, ceci étant réalisé dans un ballon muni d'un agitateur placé dans un bain de propylène glycol maintenu à la température de 0°. A l'aide d'une ampoule à brôme, on verse lentement 39 g de chlorure de sorboyle. On laisse le mélange 1/2 heure à 0°, puis on enlève le bain réfrigérant et on laisse le produit reprendre la température de la pièce, le mélange étant toujours agité.

Après acidification par ClH 4N, on extrait l'ester à l'éther. On neutralise l'extrait étheré par du carbonate de soude, on sèche sur sulfate de soude ; l'éther est évaporé et on distille sous vide le sorbate de furfuryle.

$$Eb_5 = 96^\circ \quad ; \quad Eb_{10} = 124$$

C'est un liquide jaune verdâtre à odeur de champignon qui bout à 211° sous la pression atmosphérique.

Sa formule développée peut s'écrire ainsi :



Le poids moléculaire trouvé par l'indice de saponification est 190,2

$$D_4^{24} = 1,0739 \quad ; \quad n_D^{24} = 1,5359$$

$$R_m = 55,74 \quad ; \quad R_m \text{ calculée } = 52,27 \quad ; \quad \Delta R_m = 3,47$$

Le spectre ultraviolet du sorbate de furfuryle présente un pic à 2650 Å° (chromophore sorbique) et un pic à 2190 Å° dû à la partie furfurylique.

B) Esters de Polyols

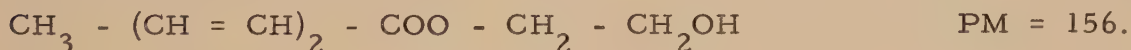
Comme nous avons pu le constater, les esters de monoalcools étudiés précédemment ont une solubilité dans l'eau très faible et même presque nulle. C'est pourquoi nous avons essayé de synthétiser des esters de polyols afin d'augmenter le caractère polaire et hydrophile de la molécule.

Tout d'abord, nous avons préparé les sorbates d'éthylène glycol, de butoxyéthyle, de propyl-1 ol-2, de butyl-2 ol-3 où il restait sur la molécule un OH libre. Ces esters ont de fait une solubilité dans l'eau supérieure à celle des esters de monoalcools.

Puis nous avons voulu augmenter encore la solubilité en laissant sur l'ester deux fonctions alcool libres ; c'est le cas pour les sorbates de butyl-1 dihydroxyméthyl-2, 2; propyl-1 diol-2, 3 (mono-glycéride), ce dernier pouvant se déshydrater en époxy-2, 3 propyle.

Enfin, nous avons essayé de synthétiser le sorbate d'ascorbyle qui conserve dans sa molécule trois fonctions alcool libres.

Sorbate d'éthylène glycol :



Cet ester a été préparé par action de l'acide sorbique en solution dans le benzène sur l'éthylène glycol en présence d'acide paratoluène sulfonique et d'hydroquinone. Après les lavages et la neutralisation habituels, on distille sous pression réduite ; on obtient l'ester incolore avec un bon rendement.

On peut aussi préparer le sorbate d'éthylène glycol par action de l'oxyde d'éthylène sur l'acide sorbique et ce serait vraisemblablement le meilleur procédé au stade industriel ; au laboratoire, il est difficile de s'arrêter au stade ester de monoéthylène glycol, et la séparation de ce produit et des esters de polyglycol est difficile.

On peut également l'obtenir par action à chaud de la monochlorhydrine du glycol sur un sorbate alcalin.

Les caractéristiques du produit obtenu sont les suivantes :

$$D_4^{21} = 1,0582 \quad ; \quad n_D^{21} = 1,5219$$

$$R_m = 44,96 \quad ; \quad R_m \text{ calculée} = 41,39 \quad ; \quad \Delta R = 3,57$$

Sorbate de butoxyéthyle :



$$PM = 212$$

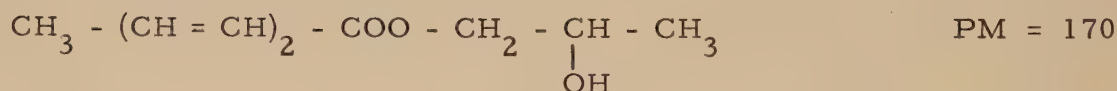
Cet ester a été préparé pour modifier légèrement la polarité du sorbate d'éthylène glycol.

Il a été obtenu par estérification directe de l'acide sorbique par du butoxy-éthanol. La réaction se fait dans le xylène en présence d'acide paratoluène sulfonique et d'hydroquinone. Après neutralisation et séchage de la couche xylénique, on distille sous pression réduite et on recueille un liquide incolore à 142° sous 10 mm de pression. Les caractéristiques en sont les suivantes :

$$D_4^{21} = 0,9548 \quad ; \quad n_D^{21} = 1,4829$$

$$R_m = 63,41 \quad ; \quad R_m \text{ calculée} = 59,98 \quad ; \quad \Delta R = 3,43$$

Sorbate de propyl-1 ol-2 :



Le sorbate de propyl-1 ol-2 a été préparé par estérification directe de l'acide sorbique en solution dans le xylène par le propane diol-1,2 (propylène glycol-1,2) en présence d'hydroquinone et d'acide paratoluène sulfonique.

Après neutralisation par du carbonate de sodium en solution aqueuse saturée, on sèche la couche xylénique à l'aide de sulfate de sodium anhydre et on distille sous pression réduite.

$$Eb_5 = 130^\circ$$

Le sorbate de propyl-1 ol-2 est un liquide incolore, sans odeur, qui bout à 256° sous la pression atmosphérique.

Nous avons déterminé certaines caractéristiques physiques de ce produit :

$$D_4^{22} = 1,0227 \quad ; \quad n_D^{22} = 1,5095$$

$$R_m = 49,67 \quad ; \quad R_m \text{ calculée} = 46,00 \quad ; \quad \Delta R = 3,67$$

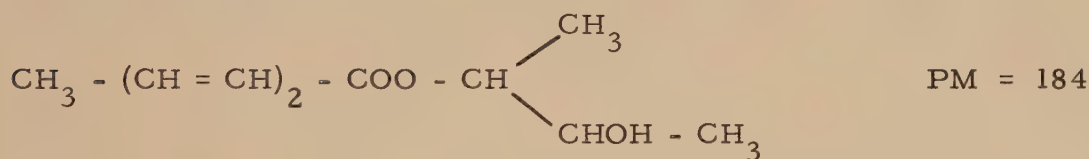
Le poids moléculaire, trouvé par saponification, est 171,8 au lieu de 170.

Le sorbate de propyl-1 ol-2 a été obtenu avec une pureté de 99,5 %. Nous l'avons confirmé par spectrophotométrie du radical sorbique.

Conservé sur hydroquinone, il est stable.

Il est très soluble dans l'alcool, l'éther et les solvants organiques. Sa solubilité dans l'eau est voisine de 1 %.

Sorbate de butyl-2 ol-3 :



Le sorbate de butyl-2 ol-3 a été préparé de façon analogue au sorbate de propyl-1 ol-2 (estérification directe de l'acide sorbique par le butane diol-2,3).

Par distillation sous pression réduite, nous avons obtenu notre produit à :

$$\text{Eb}_5 = 135^\circ$$

Le sorbate de butyl-2 ol-3 est un liquide incolore et sans odeur.

Nous avons mesuré la densité et l'indice de réfraction de cet ester :

$$D_4^{26} = 0,9963 \quad ; \quad n_D^{26} = 1,4927$$

$$R_m = 54,13 \quad ; \quad R_m \text{ calculée} = 50,62 \quad ; \quad \Delta R = 3,51$$

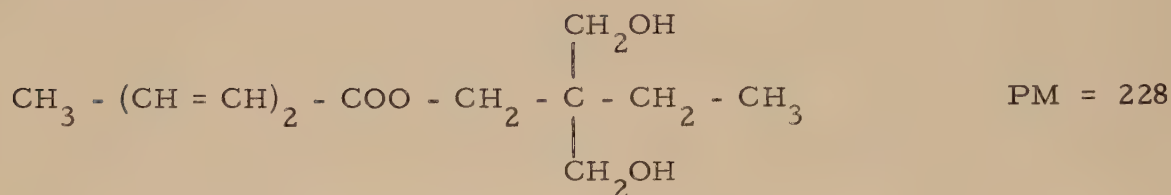
Le poids moléculaire trouvé est 186 au lieu de 184.

La pureté de notre produit est de 98,5 %.

Comme pour le sorbate de propyl-1 ol-2, le spectre ultraviolet a un maximum à 2650 A°.

Le sorbate de butyl-2 ol-3 est très soluble dans l'alcool, l'éther et les autres solvants organiques ; sa solubilité dans l'eau n'est cependant que de l'ordre de 1 %.

Sorbate de butyl-1 dihydroxyméthyl-2, 2 :



Le sorbate de butyl-1 dihydroxyméthyl-2, 2 présente deux fonctions alcool libres ; aussi la solubilité dans l'eau du produit doit se trouver augmentée considérablement.

Comme pour les deux esters de polyols étudiés précédemment, nous avons, pour le préparer, estérifié directement l'acide sorbique par le polyol, ici le triméthylol propane. Après avoir éliminé la quantité théorique d'eau formée lors de l'estérification, nous avons neutralisé la solution xylénique par du carbonate de sodium en solution aqueuse saturée, puis lavé à l'eau. Après décantation et séparation des deux phases, nous avons constaté que notre ester se trouvait dans la phase aqueuse, ceci étant dû à la solubilité supérieure du produit dans l'eau.

Nous avons ensuite extrait la solution aqueuse à l'éther. Après plusieurs extractions étherées, tout le sorbate de butyl-1 dihydroxyméthyl-2, 2 était sorti de la solution aqueuse. Après séchage et évaporation de la solution étherée, nous avons distillé sous pression réduite.

$$\text{Eb}_{10} = 165^\circ$$

Le sorbate de butyl-1 dihydroxyméthyl-2, 2 anhydre est un liquide très visqueux.

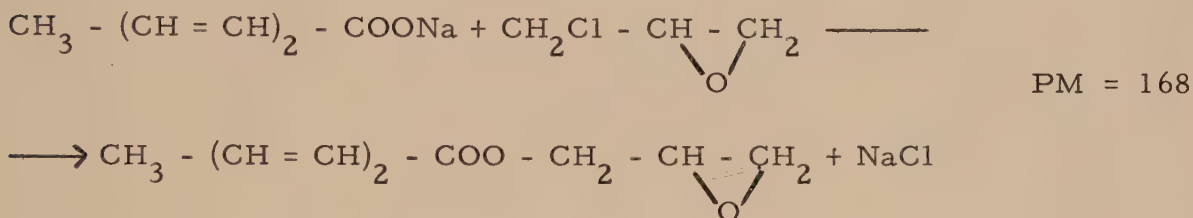
Cet ester sorbique est très avide d'eau et, après 24 heures à l'air libre, il se présente sous forme de cristaux blancs. Le poids moléculaire du produit cristallisé, mesuré par saponification, est alors de 336. Le sorbate de butyl-1 dihydroxyméthyl-2, 2 cristallise donc avec 6 molécules d'eau.

Le spectre U.V. de ce produit présente un pic à 2650 Å° comme les esters sorbiques décrits plus haut.

Le sorbate de butyl-1 dihydroxyméthyl-2,2 est très soluble dans l'eau, et cette propriété peut être intéressante pour son emploi en solution comme antifongique.

Sorbate d'époxy-2,3 propyle :

Le sorbate d'époxy-2,3 propyle a été préparé par action du sorbate de sodium sur l'épichlorhydrine.



On place dans un ballon tricol, muni d'un agitateur et d'un réfrigérant à reflux, 1 mole de sorbate de sodium (préparé extemporanément par action de soude 3N sur de l'acide sorbique, pH = 7,5) et 1 mole d'épichlorhydrine. On laisse en contact 24 heures, puis on chauffe à reflux pendant environ 2 heures. Le mélange se trouble et brunit légèrement. On suit la marche de la réaction par le dosage des chlorures libérés.

La réaction étant complète, on ajoute du chlorure de sodium afin de relarguer l'ester formé. On décante et on extrait à l'éther ; on sèche la solution étherée sur sulfate de sodium, puis on distille sous pression réduite en rajoutant de l'hydroquinone. Nous avons obtenu l'ester à l'état pur mais avec un rendement de 30 % seulement car nous n'avons pas pu empêcher une certaine polymérisation au cours de la distillation. Il faudrait sans doute opérer à pression plus basse que nous n'avons pu le faire car le sorbate d'époxy-2,3 propyle distille déjà à 135° sous 10 mm de pression.

C'est un liquide incolore qui présente les caractéristiques suivantes :

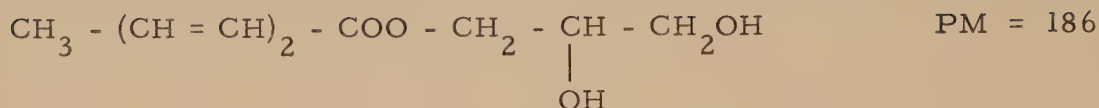
$$D_4^{24,5} = 1,0775 \quad ; \quad n_D^{24,5} = 1,5205$$

$$R_m = 47,43 \quad ; \quad R_m \text{ calculée} = 43,92 \quad ; \quad \Delta R = 3,51$$

Le poids moléculaire trouvé par saponification est de 165 au lieu de 168. Ceci a confirmé que nous nous étions bien arrêtés au stade époxy.

Le spectre U. V. de cet ester est normal.

Monosorbate de glycéryle :



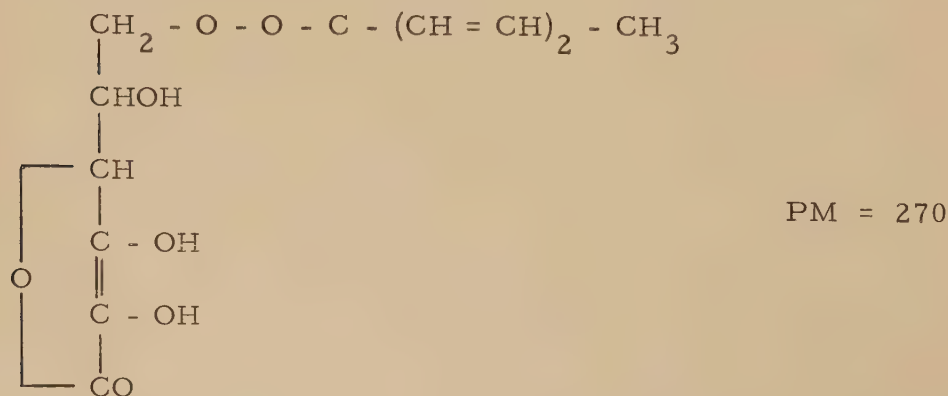
Nous avons essayé deux modes de préparation de cet ester.

- Par action de l'épichlorhydrine sur le sorbate de sodium comme précédemment ; lorsque la réaction est complète, on acidifie par HCl 3N jusqu'à pH = 2 et on chauffe à reflux pendant 1 heure pour ouvrir le cycle époxy. Puis après neutralisation et extraction étherée, on distille sous pression réduite.

- Par action de la β chlorhydrine du glycérol sur le sorbate de sodium. On suit, comme précédemment, la marche de la réaction par le dosage des chlorures formés. La réaction est nettement moins rapide. Il faut 10 à 12 heures d'ébullition à reflux.

Dans l'un ou l'autre cas, nous n'avons cependant pas pu obtenir le monosorbate de glycéryle, le produit séparé correspondant toujours à la forme époxy. Vraisemblablement, le sorbate de glycéryle se déshydrate avec fermeture du cycle époxy au cours de la distillation. Signalons d'ailleurs que SIGWALT s'est heurté à des difficultés semblables dans ses essais de préparation d'esters de glycérol et d'acides polyéthyléniques.

Sorbate d'ascorbyle :



Nous avons eu beaucoup de difficultés pour obtenir ce produit.

- Par estérification directe, nous éliminions bien la quantité d'eau attendue, mais nous obtenions un mélange de goudrons et l'extraction du produit était pratiquement impossible.

- Par action du chlorure d'acide sur la vitamine C en solution dans la pyridine, les résultats ne furent guère plus encourageants.

- Nous avons essayé d'effectuer une réaction de transestérification entre du palmitate d'ascorbyle et de l'acide sorbique. En milieu acide, la réaction ne se fait pas ; aussi avons-nous essayé en milieu alcalin, sans plus de succès malheureusement.

- Enfin, nous avons fait réagir le chlorure de sorboyle sur la vitamine C dans le diméthyl formamide. Le mélange rougeâtre obtenu est dilué à l'eau froide, ce qui précipite d'abondantes résines qu'on sépare par filtration. Le filtrat est extrait à l'éther. L'extrait étheré, après évaporation, est repris par l'alcool, et la solution alcoolique est lavée à l'éther de pétrole. Celui-ci extrait surtout de l'acide sorbique. Le spectre de la phase alcoolique brun-rouge montre la présence d'un ester sorbique. Par évaporation sous vide de l'alcool, on obtient une masse plus ou moins cireuse ayant les caractéristiques suivantes :

PM par l'indice de saponification : 267, 2 (270 théoriquement pour le sorbate d'ascorbyle)

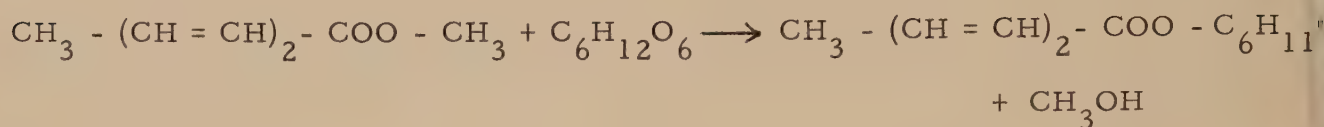
Spectre ultraviolet : pic à 2650 A° correspondant à 75 % de l'acide sorbique attendu dans un sorbate d'ascorbyle pur.

Cette cire nous a paru renfermer une assez forte proportion de sorbate d'ascorbyle (de l'ordre de 75 %) à côté d'acide ascorbique non estérifié (environ 25 %). Mais la séparation de ces constituants n'a pas été possible par dissolution et précipitation fractionnée quels que soient les solvants ou mélanges de solvants employés. Le caractère insaturé du sorbate comme de la vitamine C permet de penser qu'il se forme entre ces deux produits une forte association s'opposant à un fractionnement efficace. SIGWALT signale de même la rétention du sorbate de méthyle par le trisorbate de glycérol

Sorbates de glucose et de saccharose :

Nous avons essayé d'allonger la chaîne polyhydroxylée en copulant avec l'acide sorbique, soit une molécule de glucose, soit une molécule de saccharose. On sait que les monoesters d'acides gras et des sucres sont obtenus industriellement de façon rentable par transestérification dans des solvants polaires comme le diméthylformamide (D.M.F.) et le diméthylsulfoxyde (D.M.S.O.). Par analogie avec ce procédé, nous

avons fait agir l'ester méthylique de l'acide sorbique sur le glucose et le saccharose. Par exemple :



Cette réaction a été effectuée à 80° sous 60 à 70 mm de pression résiduelle, pendant 20 heures. Après filtration du mélange, on distille le D.M.F. ou le D.M.S.O. sous pression réduite. Le produit est repris par l'eau et le sorbate de méthyle qui n'a pas réagi est extrait à l'éther. On évapore l'eau sous vide et on obtient un produit assez visqueux et hygroscopique, de saveur amère rappelant celle des esters gras de sucrose, mais incristallisable.

L'analyse montre cependant que la composition est très voisine de celle attendue pour un monosorbate de glucose ou de saccharose.

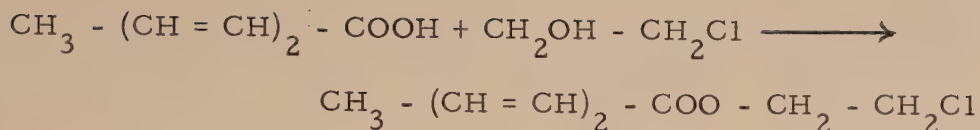
Signalons pourtant que le spectre ultraviolet des produits tels qu'ils ont été préparés révèle un camouflage presque total du système de doubles liaisons conjuguées. Nous reprendrons ultérieurement l'étude de ce problème de structure mais nous pensons que, le radical sorboyle étant replié sur le cycle pyranique (ou furannique) du sucre, de nombreux hydroxyles viennent au voisinage des doubles liaisons ; il y a donc une très grande probabilité de transfert de charges entre les électrons libres des atomes d'oxygène des sucres et les orbitales π du radical sorboyle. Ceci peut entraîner la perturbation observée dans le spectre ultraviolet.

C) Esters d'alcools chlorés

Il est bien connu que les dérivés halogénés possèdent souvent un pouvoir antiseptique supérieur à celui de la molécule initiale. C'est pourquoi nous avons jugé intéressant de fixer un atome de chlore sur la molécule de nos esters de monoalcools ou de polyols.

Sorbate de β chloréthyle :

Le premier dérivé halogéné que nous avons préparé a été le sorbate de β chloréthyle. Cet ester a été obtenu en faisant réagir la monochlorhydrine du glycol sur l'acide sorbique.



PM = 174,5

Nous avons adopté la même technique que pour l'estérification de l'acide sorbique par les monoalcools.

Cependant, nous avons neutralisé la solution xylénique de l'ester à l'aide de bicarbonate de sodium au lieu de carbonate de sodium, afin de ne pas risquer de déplacer le chlore.

Après les différentes opérations détaillées précédemment, nous avons distillé sous pression réduite l'ester sorbique de la monochlorhydrine du glycol.

$$\text{Eb}_{10} = 128^\circ$$

Le sorbate de β chloréthyle se présente comme un liquide incolore à odeur rappelant celle du sorbate d'éthyle.

Il a été obtenu avec une pureté de 99 % et le poids moléculaire trouvé par saponification est de 175. Il faut signaler que, lors de la saponification, la fonction chlorhydrine est également hydrolysée (vérifié par dosage des chlorures après saponification) ; il faut donc calculer le poids moléculaire en partant d'un équivalent de saponification égal à PM/2.

Nous avons mesuré la densité et l'indice de réfraction de ce produit :

$$D_4^{25,7} = 1,0881 \quad ; \quad n_D^{25,7} = 1,5213$$

$$\text{Rm} = 48,85 \quad ; \quad (\text{Rm calculée} : 44,73) \quad ; \quad \Delta R = 4,12$$

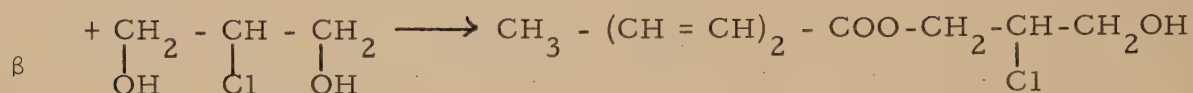
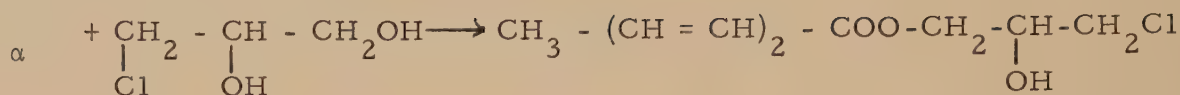
Le dosage du radical sorbique par spectrophotométrie U.V. a confirmé la pureté de cet ester.

Le sorbate de β chloréthyle est soluble dans l'alcool et l'éther ainsi que dans les solvants organiques, mais il est peu soluble dans l'eau.

Monosorbate de glycéryle α chloré et monosorbate de glycéryle β chloré

Ces esters sont obtenus par action des α ou β chlorhydrines du glycérol

sur l'acide sorbique.



Ces deux isomères chlorés en α ou en β ont un poids moléculaire de 204,5.

Ce sont des liquides de couleur jaune pâle, qui distillent à 135-140° sous une pression résiduelle de 10 mm.

Il ne nous est pas possible de donner avec certitude les caractéristiques physiques de l'ester α chloré pur, car nous avons obtenu chaque fois un mélange d'isomères difficilement séparables, qui par ailleurs se polymérise très facilement.

Par spectrophotométrie U.V., nous avons pu doser le radical sorbique qui présente un pic à 2650 Å° ; la teneur en acide sorbique des produits correspond, à 1-2 % près, à celle des sorbates de glycéryle (monoesters).

Les poids moléculaires trouvés par saponification sont de même compris entre 202 et 204, compte tenu de l'attaque des fonctions chlorées.

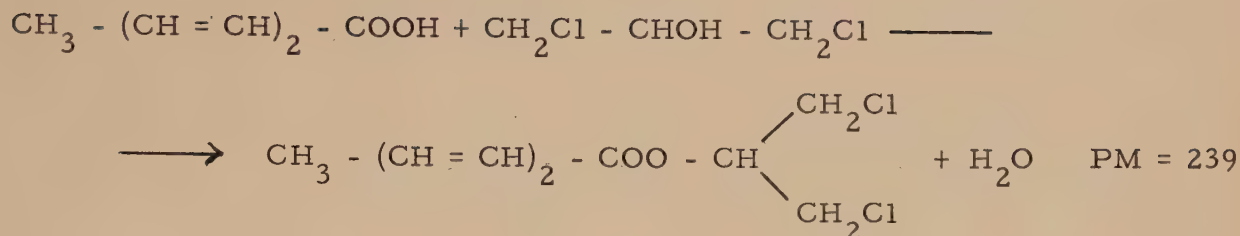
Nous avons cependant mesuré la densité et l'indice de réfraction du monosorbate de glycéryle β chloré :

$$D_4^{21} = 1,1783 \quad ; \quad n_D^{21} = 1,5252$$

$$\text{Rm} = 53,18 \quad ; \quad \text{Rm calculée} = 50,87 \quad ; \quad \Delta R = 2,31$$

Sorbate de dichloro- α, α' isopropyle :

Cet ester a été obtenu par estérification directe de l'acide sorbique par la dichlorhydrine $\alpha \alpha'$ du glycérol.



C'est un liquide jaune, brunissant à l'air, qui distille à 158° sous une pression résiduelle de 10 mm.

Le poids moléculaire trouvé par saponification est de 239,4.

Le dosage du chromophore sorbique par spectrophotométrie U.V. indique une pureté de 99 %.

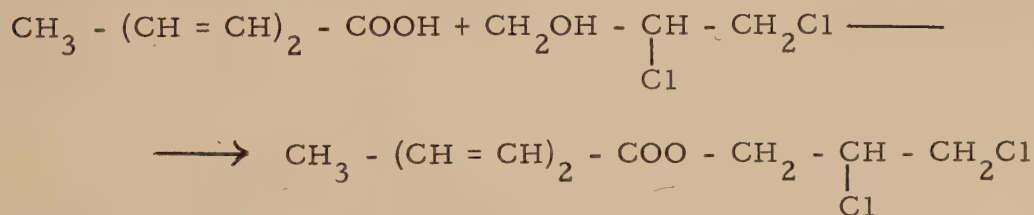
$$D_4^{25} = 1,1816 \quad ; \quad n_D^{25} = 1,5254$$

$$\text{Rm} = 62,02 \quad ; \quad \text{Rm calculée} = 54,26 \quad ; \quad \Delta R = 7,76$$

Notons cette exaltation de la réfraction moléculaire due au voisinage des atomes de chlore, et de l'hydrogène lié au carbone estérifié.

Le sorbate de dichloro- α , α' isopropyle est soluble dans l'alcool, l'éther et insoluble dans l'eau.

Sorbate de dichloro- α , β propyle :



$$\text{PM} = 239$$

Le sorbate de dichloro- α , β propyle a été préparé par action de la dichlorhydrine $\alpha\beta$ du glycérol sur l'acide sorbique.

C'est un liquide jaune pâle, brunissant légèrement à l'air. Il est distillable sous pression réduite.

$$\text{Eb}_{10} = 160^\circ$$

$$D_4^{25} = 1,1775 \quad ; \quad n_D^{25} = 1,5310$$

$$R_m = 62,79 \quad ; \quad R_m \text{ calculée} = 54,26 \quad ; \quad \Delta R = 8,53$$

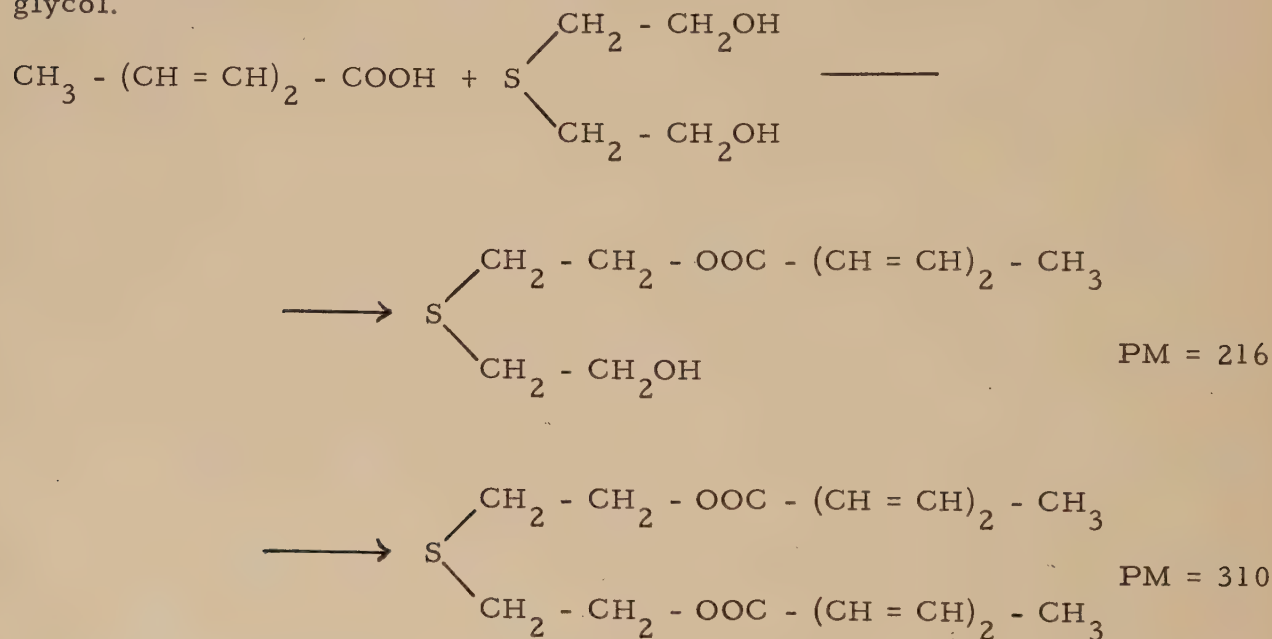
Tous les esters mono ou dichlorés du glycérol ont été essayés comme antifongiques ; ils se sont montrés très intéressants.

D) Sorbates de thioglycols

Dans cette série, nous n'avons préparé avec succès qu'un seul ester : l'ester sorbique du thiodiéthylène glycol, commercialisé sous le nom de "Kromfax".

Nous avons opéré par estérification directe de l'acide sorbique en solution dans le xylène par le thiodiéthylène glycol.

Nous obtenons en fait un mélange de mono et disorbate de thiodiéthylène glycol.



C'est un liquide brun qui distille entre 180° et 220° sous 10 mm de pression, sans fractionnement véritable. Il a une odeur repoussante, très désagréable ; les vapeurs sont assez toxiques (céphalées, nausées, etc ..., même en travaillant sous la hotte aspirante). C'est pourquoi nous n'avons pas poursuivi l'étude de ce produit dont l'emploi ne pourrait être envisagé.

E) Esters d'alcanolamines

Nous avons préparé quelques dérivés aminés, afin d'essayer leur action antifongique et de pouvoir les comparer avec les esters et les amides de l'acide sorbique.

Nous avons essayé deux sortes de préparations:

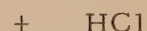
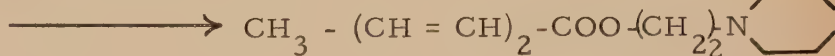
- Par action d'une amine sur un ester chloré de l'acide sorbique,
- Par action d'une alcanolamine sur l'acide sorbique.

1 - A partir du sorbate de β chloréthyle :

Nous avons préparé antérieurement du sorbate de β chloréthyle $\text{CH}_3 - (\text{CH} = \text{CH})_2 - \text{COO} - \text{CH}_2 - \text{CH}_2\text{Cl}$, par action de la monochlorhydrine du glycol sur l'acide sorbique. Il était alors aisé de copuler ce corps avec une amine ; nous ne donnerons ici que deux exemples :

Sorbate d'éthyl morpholine :

Le sorbate d'éthyl morpholine a été synthétisé en faisant bouillir à reflux pendant 10 minutes du sorbate de β chloréthyle avec de la morpholine en solution dans le benzène.



PM = 261,5

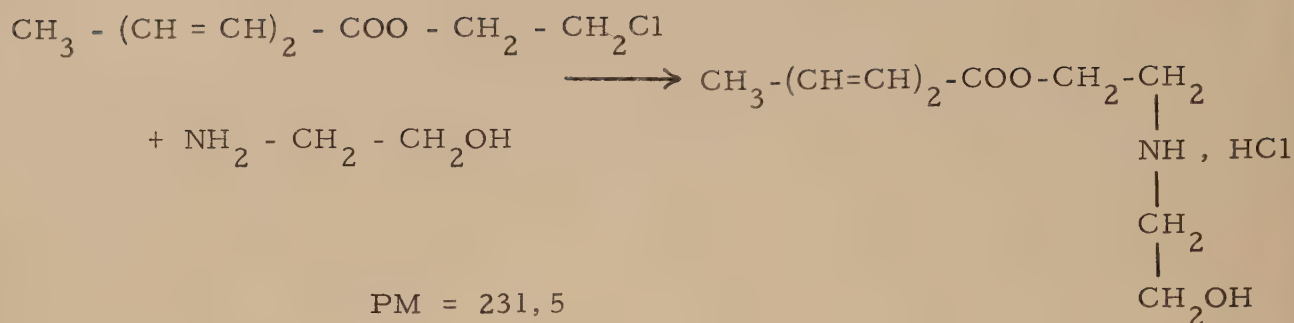
Après refroidissement, on filtre sur Büchner et on obtient un précipité blanc jaunâtre qui est le chlorhydrate du sorbate d'éthyl-morpholine.

Ce précipité est lavé et séché pour éliminer toute trace de benzène.

F = 138°

Sorbate d'éthylaminoéthanol :

Le sorbate d'éthylaminoéthanol a été préparé de la même façon.



Par filtration du mélange refroidi, on obtient un précipité brun clair qui est lavé et séché.

F. = 100°

Ces deux réactions se font d'une façon quantitative, et comme ces produits se présentent sous forme de chlorhydrates, ils sont très solubles dans l'eau.

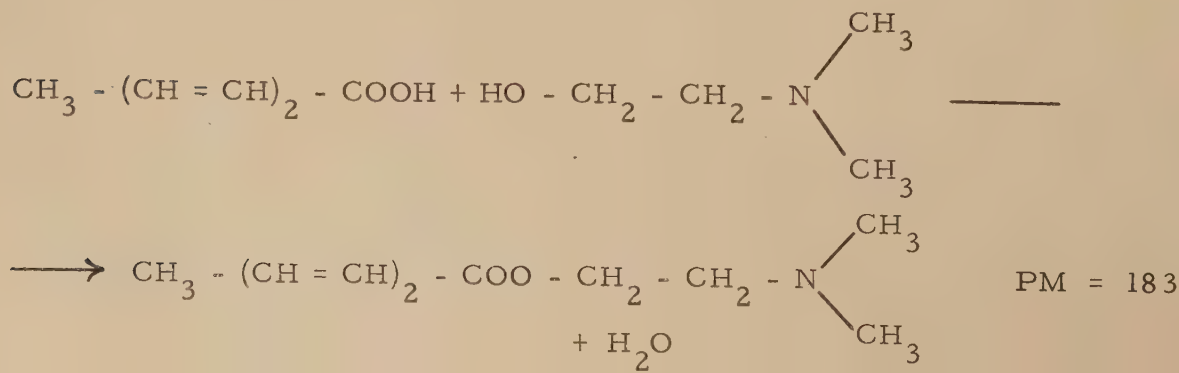
Par saponification et dosage acidimétrique, nous avons pu vérifier le poids moléculaire de ces produits. Par ailleurs, le dosage du radical sorbique par spectrophotométrie U.V. nous a confirmé leur pureté.

2 - Par estérification de l'acide sorbique :

Comme pour les esters étudiés auparavant, nous avons effectué l'estérification de l'acide sorbique en solution dans le xylène par la diméthyléthanolamine en présence d'acide paratoluène sulfonique et d'hydroquinone. L'eau formée était entraînée par les vapeurs de xylène et éliminée à l'aide d'un séparateur de Dean Stark.

Après neutralisation et lavage, on distillait sous pression réduite l'ester aminé formé :

$\text{Eb}_{25} = 148^\circ$; $\text{Eb}_{40} = 162^\circ$



Pour la préparation, on doit prévoir un excès d'éthanolamine, 1,5 mole pour 1 mole d'acide sorbique, car une partie de l'éthanolamine est entraînée et se dissout dans l'eau formée lors de l'estérification.

Le sorbate de diméthyléthanolamine est un liquide jaune pâle qui brunit à l'air. Il est soluble dans l'eau.

Le poids moléculaire de cet ester a été confirmé par saponification et par dosage acidimétrique. Sa pureté a été vérifiée par le spectre U.V. du produit en solution aqueuse.

$$D_4^{24} = 1,009 \quad ; \quad n_D^{24} = 1,5227$$

$$R_m = 55,37 \quad ; \quad R_m \text{ calculée} = 53,04 \quad ; \quad \Delta R = 2,33$$

Note : La fonction amine influence défavorablement la stabilité de ces esters qui ont tendance à jaunir ou brunir à l'air.

LES AMIDES

Ayant préparé un certain nombre d'esters sorbiques, dont quelques-uns se sont révélés des antifongiques nettement plus actifs in vitro que l'acide sorbique, nous avons voulu examiner également des amides sorbiques. En effet, dans les amides monosubstitués, le groupe NH correspond à l'oxygène des esters, mais l'hydrogène lié à l'azote laisse des possibilités réactionnelles que ne présente pas l'oxygène. De plus, amides et esters peuvent être hydrolysés, mais avec une plus ou moins grande facilité, notamment par voie enzymatique. Il était donc à priori intéressant d'étudier quelques amides sorbiques ; on pouvait d'ailleurs espérer trouver, en plus de l'activité antifongique, une action plus ou moins anesthésique, antiprurigineuse ou antihistaminique (amides des alcanolamines, par exemple).

Parmi les amides de l'acide sorbique, seul le sorbamide avait été préparé antérieurement ; nous avons repris sa synthèse et nous l'avons généralisée pour obtenir quelques autres dérivés.

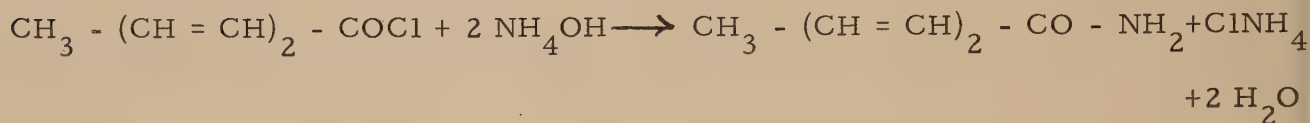
Sorbamide :

A. W. HOFMANN prépare l'amide de l'acide sorbique par action du chlorure de sorboyle sur du carbonate d'ammonium.

DOEBNER et WOLFF font réagir du chlorure de sorboyle dans l'ammoniaque concentrée refroidie.

HOFMANN indique une autre méthode de formation du sorbamide : chauffage à 120° du sorbate d'éthyle avec de l'ammoniaque.

Nous avons essayé ces trois méthodes et c'est avec celle de DOEBNER et WOLFF que nous avons obtenu les meilleurs résultats (rendement : 95 %).



Pour effectuer cette réaction, on place un bécher contenant l'ammoniaque dans un mélange réfrigérant à -5°C. Quand la température de l'ammoniaque atteint environ 0°C, on introduit peu à peu le chlorure de sorboyle en agitant et en veillant à ce que la température ne s'élève pas de façon sensible. Lorsque la quantité théorique d'acide a été versée, on laisse le mélange en contact 24 heures et on essore le précipité formé.

On lave celui-ci à l'éther et on obtient, après séchage, le sorbamide très pur.

Le sorbamide est une substance blanche bien cristallisée qui fond à 169-170°.

Le spectre U.V. de ce produit est, compte tenu des poids moléculaires, identique à celui de l'acide sorbique non dissocié et peut servir à son dosage (pic à 2620 Å au lieu de 2650 Å).

Le sorbamide est soluble dans l'alcool et dans l'eau.

KUHN et KOHLER ont étudié la toxicité et le métabolisme du sorbamide sur des chiens. Ils ont montré qu'après consommation par ces animaux, on retrouvait dans l'urine le monoamide de l'acide trans-trans-muconique.

N-éthyl sorbamide :



Le N-éthyl sorbamide a été obtenu en faisant agir le chlorure de sorboyle, au voisinage de 0°, sur l'éthylamine redistillée, dans le rapport

moléculaire 1/2. Ceci peut se faire plus facilement encore dans l'éther anhydre.

La réaction terminée, on ajoute de l'eau et on décante. La phase supérieure, qui contient le N-éthyl sorbamide, est lavée à l'eau bicarbonatée pour extraire les traces d'acide sorbique qui auraient pu se former ; l'éther est évaporé après séchage sur sulfate de sodium anhydre.

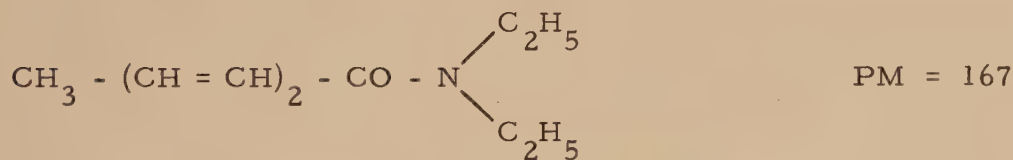
Nous avons obtenu le N-éthyl sorbamide avec un rendement de 87 %.

C'est un solide blanc jaunâtre pâteux, très hygroscopique bien qu'assez peu soluble dans l'eau.

Nous avons pu vérifier le poids moléculaire par saponification, dosage de l'azote et dosage de l'acide sorbique par spectrophotométrie U.V.

Le N-éthyl sorbamide est peu soluble dans l'eau, mais soluble dans l'alcool et l'éther.

N-diéthyl sorbamide :

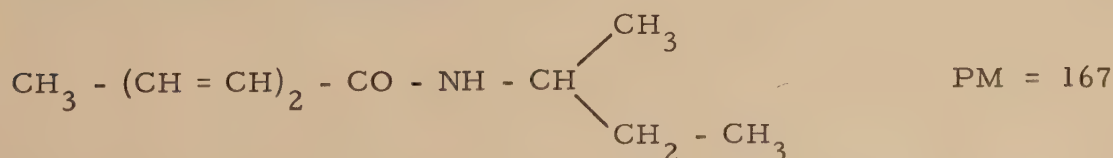


Le N-diéthyl sorbamide a été préparé de façon analogue au N-éthyl sorbamide, mais en partant de la diéthylamine.

C'est un solide cristallisé, brunissant légèrement et se liquéfiant au contact de l'air.

Il est soluble dans l'alcool et l'éther et peu soluble dans l'eau.

Butyl secondaire sorbamide :



Le butyl secondaire sorbamide a été obtenu en faisant agir du chlorure de sorboyle sur une solution refroidie de butyl secondaire amine dans

l'éther anhydre. L'amide et le chlorure de butyl ammonium précipitent simultanément.

Après réaction, on ajoute un peu d'eau, afin de dissoudre le chlorhydrate de butylamine. On essore et on lave le précipité à l'eau et à l'éther. On obtient un produit blanc, bien cristallisé qui fond à 136°.

Les dosages acidimétrique et spectrophotométrique U.V. ont confirmé sa pureté.

Le butyl secondaire sorbamide est soluble dans l'alcool, mais peu soluble dans l'éther et dans l'eau.

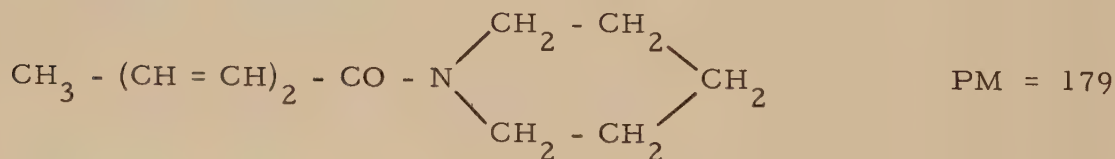
Anilide sorbique ou Phényl sorbamide :



Le phényl sorbamide a été obtenu par action du chlorure de sorboyle sur l'aniline. Après lavage à l'eau et recristallisation dans l'alcool, on obtient des paillettes brillantes argentées qui fondent à 156°.

Le spectre U.V. de ce produit est perturbé et présente un maximum à 2780 Å°. Ceci traduit une conjugaison importante, par l'intermédiaire de l'atome d'azote, entre les deux chromophores, sorbique et benzénique. Cette conjugaison doit en effet provoquer un déplacement du spectre vers les grandes longueurs d'ondes.

Pipéridino sorbamide :



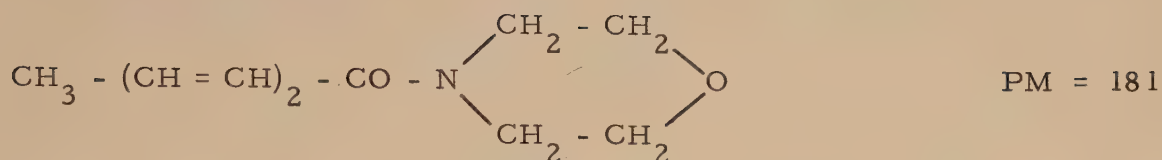
Le pipéridino sorbamide a été préparé de la même façon par action du chlorure de sorboyle sur la pipéridine en solution dans l'éther anhydre.

C'est un solide blanc jaunâtre qui fond à 72°.

Il est très soluble dans l'alcool et l'éther, et peu soluble dans l'eau.

Le spectre U.V. présente un pic à 2660 Å° qui correspond au chromophore sorbique, à peine perturbé par le radical pipéridyle.

Morpholino sorbamide :



Le morpholino sorbamide a été obtenu par la même méthode. Après 24 heures de contact, on lave à l'eau et on essore l'amide qui est mis à sécher.

C'est un solide blanc jaunâtre, bien cristallisé, qui fond à 60° ; il est soluble dans l'alcool et peu soluble dans l'éther.

Le spectre U.V. de ce produit présente un pic à 2680 Å° ; le radical morpholyle influence donc un peu plus le chromophore sorbique que le radical pipéridyle.

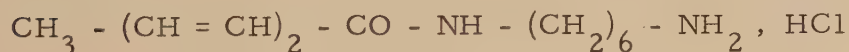
Amino-6 hexaméthylène sorbamide :



Nous espérons pouvoir solubiliser cet amide grâce à la fonction amine terminale.

Pour l'obtenir, nous avons fait réagir, en proportion molaire, le chlorure de sorboyle sur l'hexaméthylène diamine en solution dans l'éther anhydre. L'amino amide doit alors apparaître sous forme de chlorhydrate insoluble dans l'éther. Malheureusement, ce sel est aussi peu soluble dans l'eau.

Après essorage et séchage, on peut le faire recristalliser dans l'alcool à 70°.



C'est une poudre blanche microcristalline, de point de fusion égal à 228°, peu soluble dans l'eau, soluble dans l'alcool, insoluble dans l'éther.

Une partie de ce chlorhydrate a été alcalinisée à froid par de la soude 3N, de façon à déplacer l'ion chlorure. Après lavage à l'eau, jusqu'à disparition des chlorures, séchage sous vide et recristallisation dans l'alcool, l'amino hexaméthylène sorbamide base se présente comme une poudre blanche insoluble dans l'eau, peu soluble dans l'éther, plus dans l'alcool, qui fond à 231°.

Monoéthanol sorbamide :

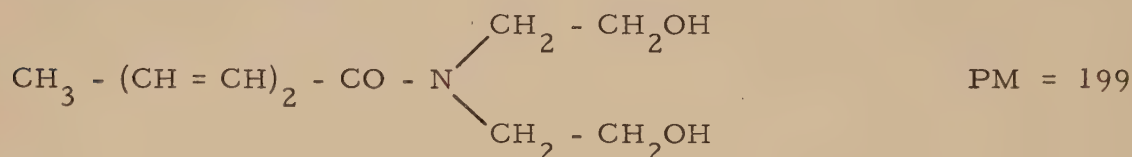
Nous avons cherché ici à introduire un groupe hydrophile dans la molécule.



Le monoéthanol sorbamide a été préparé par action du chlorure de sorboyle sur la monoéthanol amine dans l'éther anhydre. Après addition d'eau pour éliminer le chlorhydrate d'éthanolammonium, on lave la phase aqueuse à l'éther car l'amide est aussi soluble dans l'eau. Les extraits éthérés sont réunis et évaporés. On obtient un solide blanc, cireux, très hygroscopique et soluble dans l'eau, dans l'alcool et l'éther.

Le spectre ultraviolet est normal, avec un maximum à 2630 Å°.

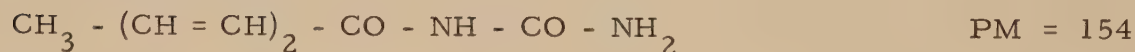
Diéthanol sorbamide :



Le diéthanol sorbamide a été préparé comme l'amide précédent.

C'est un produit blanc, visqueux, très soluble dans l'eau et l'alcool.

Uréide sorbique :



L'uréide sorbique a été obtenu en faisant réagir mole à mole du chlorure de sorboyle sur de l'urée en solution dans l'éther anhydre et en présence d'une mole de pyridine.

Après deux heures d'agitation à froid, on ajoute un peu d'eau pour dissoudre le chlorure de pyridinium formé et on sèche la couche éthérée sur sulfate de soude anhydre.

La solution éthérée est mise à évaporer. Au départ, les premiers cristaux au sein de la solution sont jaune citron, et, au cours du séchage, il deviennent beige clair.

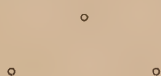
L'uréide sorbique est un solide bien cristallisé qui fond à 131-132°.

Thiouréide sorbique :



Pour préparer ce produit, nous avons opéré comme ci-dessus en remplaçant l'urée par la thiourée.

Le Thiouréide sorbique est également un solide beige clair, mais qui fond à 110° en se décomposant.



Ces amides se sont montrés assez peu stables ; ils brunissent plus ou moins rapidement à l'air et certains se liquéfient. Ils posent donc des problèmes de conservation que nous n'avons pas voulu aborder avant d'être un peu mieux renseigné sur l'intérêt thérapeutique éventuel de ces produits.

Pour la même raison, nous n'avons pas multiplié les synthèses de ces amides qui se font toujours avec de bons rendements - 80 % environ dans les divers groupes étudiés -.

L'examen d'ensemble des spectres ultraviolets de ces amides et uréides montre que, suivant la nature du substituant sur l'azote, le maximum d'absorption correspondant au chromophore sorbique varie de 2600 à environ 2800 Å°, c'est-à-dire de part et d'autre de 2650 Å°, valeur observée pour l'acide sorbique non dissocié.

Pour les esters, ces variations sont beaucoup moins importantes et pratiquement négligeables. Ceci veut dire que :

- dans les esters, la répartition électronique et les niveaux énergétiques pour la chaîne insaturée restent à peu près ce qu'ils sont dans l'acide sorbique non dissocié ;

- dans les amides, densité électronique et niveaux énergétiques sont nettement modifiés. Il faudra en tenir compte dans les essais d'interprétation des variations de l'activité antifongique en fonction de la structure.

DEUXIEME PARTIE

ESSAIS D'ACTIVITE ANTIFONGIQUE

Après avoir étudié la préparation et les propriétés chimiques de quelques dérivés de l'acide sorbique, nous avons voulu voir si ces produits avaient un pouvoir antifongique supérieur à celui de l'acide sorbique. Nous n'avons pu effectuer que des essais *in vitro*.

Nous indiquerons seulement ici les résultats que nous avons obtenus avec les techniques que nous avons adoptées. Nous serions heureux que des spécialistes de ces questions veuillent bien infirmer ou confirmer nos observations et, pour les produits actifs, préciser leur mécanisme d'action.

Après avoir consulté la littérature se rapportant aux techniques d'essais antifongiques *in vitro*, notre choix s'est porté sur les méthodes de diffusion ; nous avons tout de même essayé les méthodes d'incorporation du produit dans le milieu de culture.

Sur les conseils de M. le Professeur FOUCAUD, nous avons adopté pour nos essais certaines souches de champignons parasites des végétaux et fréquentes dans les industries alimentaires :

Penicillium digitatum
Fusarium culmorum
Mucor racemosus
Alternaria tenuis

Ayant obtenu, avec quelques produits, des résultats qui nous semblaient encourageants, nous avons poursuivi nos expériences sur des souches de champignons pathogènes pour l'homme :

Trichophyton rubrum
Trichophyton mentagrophytes
Microsporum canis var. *lanosum*
Epidermophyton floccosum
Candida albicans

Notre travail ayant porté sur plus de mille essais, nous n'indiquons ici, pour les différents dérivés sorbiques, qu'une moyenne des résultats avec chaque souche de champignons.

I) Souches utilisées

1 - Champignons parasites des végétaux :

- *Penicillium digitatum*

Penicillium digitatum fait partie de la classe des Ascomycètes, de la sous-classe des Euscomycètes, de l'ordre des Plectascales et de la famille des Aspergillacées.

C'est un agent très fréquent de la pourriture des fruits. Ainsi, les oranges, mandarines, citrons, sont souvent atteints d'une pourriture molle (moisissure verte) provoquée par ce champignon. Notre souche a été isolée à partir d'oranges marocaines.

- *Fusarium culmorum*

Fusarium culmorum appartient à la classe des Adélomycètes et à l'ordre des Hyphales.

Ce champignon est l'un des principaux représentants du genre *Fusarium* genre réputé pour les dégâts que causent la plupart de ses espèces et connus sous le nom de trachéomycoses. Notre souche a été isolée à partir d'artichauts contaminés naturellement.

- *Mucor racemosus*

Mucor racemosus se trouve dans la classe des Phycomycètes, série des Zygomycètes, ordre des Mucorales.

C'est un champignon que l'on rencontre souvent et qui est susceptible de provoquer des "mucormycoses", maladies courantes des végétaux et des animaux. C'est un parasite fréquent des laiteries et fromageries où il cause une "maladie" des fromages connue des industriels sous le nom de "poil de chat". Notre souche provient précisément d'une fromagerie d'Edams où s'était produit cet accident de fabrication.

- Alternaria tenuis

Alternaria tenuis rentre dans la classe des Adelomycètes, ordre des Hyphales.

Il est à l'origine de certaines maladies appelées "Alternarioses" ; ce sont des affections des feuilles qui atteignent souvent les Solanacées et notamment les tomates.

Ayant obtenu ces souches, nous les avons conservées par repiquage mensuel sur tubes inclinés contenant le milieu de culture suivant :

Gelose Biolyon	22 g	
Maltea Moser	10 g	
Eau	1000 ml	pH = 5,7

2 - Champignons pathogènes pour l'homme :

Nous tenons à remercier ici M. le Professeur DOBY qui nous a aimablement procuré les souches suivantes :

Trichophyton rubrum, *Trichophyton mentagrophytes* (appelé récemment *Ctenomyces mentagrophytes*), *Microsporum canis*, *Epidermophyton floccosum* et *Candida albicans*.

Les quatre premières souches appartiennent à la classe des Ascomycètes, sous-classe des Euascomycètes, ordre des Plectascales, famille des Gymnoascacées, tandis que *Candida albicans* est un champignon levuriforme qui a été rattaché à des genres très divers (*Endomyces*, *Monilia*, *Oidium*, *Mycotorula*, *Saccharomyces*, etc ...) ; DEYSSON le classe dans la famille des Saccharomycétacées.

- *Trichophyton rubrum* : rare en France, se rencontre surtout en Extrême-Orient, en Afrique tropicale et en Amérique du Sud. Il donne des épidermophyties inguinales, plantaires ou généralisées, des onychomycoses.

- *Trichophyton mentagrophytes* ou *Ctenomyces mentagrophytes* est à l'origine de teignes surélevées suppuratives apparaissant sur le cuir chevelu ou dans la barbe.

- *Microsporum canis* var. *lanosum*, assez fréquent en France, peut être transmis par l'intermédiaire d'animaux domestiques (chat, chien). Il est à l'origine d'une teigne chez l'enfant, parfois chez l'adulte ; il est responsable également de l'herpès circiné.

- *Epidermophyton floccosum* produit dans nos régions une dermato-

phytie de la peau, appelée eczéma marginé de Hébra.

- *Candida albicans* est le plus important agent des candidoses ou moniliases très graves, surtout depuis le développement des antibiotiques.

Ces souches ont été cultivées et conservées par repiquage sur milieu de Sabouraud.

Afin de savoir à quelles dilutions utiliser les suspensions de spores de ces souches, nous les avons cultivées dans des boîtes de Pétri en matière plastique de 10 cm de diamètre contenant 10 ml de milieu de culture stérile, en employant la méthode classique des dilutions. Après 48 heures de culture à 22-25°, les colonies apparues à chacune des dilutions étaient comptées, et les dilutions à retenir étaient choisies en fonction des nombres obtenus.

Ultérieurement, pour chaque série d'essais antifongiques, des boîtes témoins étaient toutefoisensemencées sans aucun produit pour s'assurer de la qualité de l'ensemencement.

II) Généralités sur les techniques utilisées

1 - Technique d'ensemencement :

Toutes les boîtes de Pétri étant identiques, on coulait dans chaque boîte 10 ml du milieu de culture stérile dont la composition a été indiquée précédemment. On prenait bien soin d'éviter toute contamination extérieure en se plaçant devant la flamme d'un bec Mecker et loin de tout courant d'air. Après refroidissement et prise en masse du milieu de culture, on ensemençait en introduisant dans la boîte 1 ml de la dilution de spores de champignons qu'on répartissait ensuite aussi uniformément que possible sur toute la surface. Après 24 heures de germination à 25°, on mettait en place les disques contenant le produit à essayer, selon la technique que nous décrirons ultérieurement.

2 - Conditionnement des produits à tester :

- Tout d'abord, nous avons pensé incorporer directement une solution aqueuse du produit dans l'ensemble du milieu de culture avant l'ensemencement. Mais nous avons rencontré de nombreuses difficultés car un grand nombre de nos dérivés sorbiques étaient peu solubles ou insolubles dans l'eau et il n'était guère possible de réaliser des solutions permettant d'obtenir dans la boîte une concentration en produit voisine de 1 %, proportion moyenne d'utilisation des produits antifongiques.

Nous avons essayé d'émulsionner les suspensions aqueuses des produits à l'aide d'éthylène glycol ou de Tween, substances n'ayant aucune propriété fongicide gênante aux doses employées ; les produits se déposaient de même au fond de la gélose et la diffusion s'effectuait de façon irrégulière et peu reproductible. De plus, trouver les dilutions de spores convenables et les concentrations actives de nos produits nous aurait conduit à un nombre d'essais impossible à retenir, compte tenu des moyens dont nous disposions.

- Devant ces résultats peu satisfaisants, nous avons essayé les méthodes de diffusion centrale utilisées dans de nombreux laboratoires.

Cette technique consiste à déposer à la surface du milieu de culture un disque de papier servant de support à la substance étudiée. On fait préalablement absorber au papier une solution aqueuse de cette substance, puis on sèche le disque.

Toutefois, le problème de la mise en solution pour certains produits restait entier. Dans la plupart des cas, il fallait utiliser un autre solvant que l'eau et le chasser par évaporation préalable. La structure du papier se trouve modifiée par ces solvants qui déshydratent plus ou moins la cellulose, et les disques trop secs adhèrent mal au milieu de culture. A l'évaporation, la substance cristallise parfois et ne se répartit pas toujours de façon homogène.

Bien que les disques de papier employés soient normalisés, on ne peut pas compter sur leur capacité d'absorption par cm² pour fixer la quantité de produit mise en expérience à chaque essai ; on est obligé de mettre à évaporer sur le papier, par fractions successives, le volume déterminé de solution de concentration connue, ce qui est une source d'erreurs et de contaminations.

De plus, les différences de polarité entre les diverses molécules essayées sont assez grandes pour expliquer une absorption (et une rétention) plus ou moins grande par la cellulose qui peut influencer

fortement la diffusion dans le gel aqueux.

Par ces différents procédés, nous avons observé au cours de ces premiers essais des résultats assez peu reproductibles et très difficiles à interpréter.

- Aussi avons-nous essayé d'incorporer nos produits insolubles dans un excipient consistant ; nous donnons comme exemple la formule de la pommade au sorbate de zinc :

Sorbate de zinc	2 g
Lanoline	4 g
Perhydrosqualène	4 g

Nous déposions à la surface des boîtes de Pétriensemencées une noisette de cette préparation (10 mm de diamètre environ). Mais la diffusion ne se réalisait pas d'une façon absolument symétrique, surtout quand nous passions aux produits organiques liquides qui modifiaient la consistance de la pommade.

- C'est alors que nous avons pensé préparer des disques de gélose contenant nos produits à la même concentration molaire ; nous avons toujours utilisé la concentration M/4.

Pour cette technique, nous dispersions la quantité calculée de produit dans un bécher contenant 30 g de gélose liquide et nous coulions, sous agitation, dans des couvercles de boîtes de Pétri à fond bien plat, notre mélange le plus homogène possible. Après refroidissement, il était facile de découper, à l'aide d'un compressodoseur, des disques ayant le même diamètre.

Nous déposions ensuite ces petits disques de gélose dans des boîtes de Pétri, à la surface du milieu de cultureensemencé depuis 24 heures.

Cette technique présentait de nombreux avantages :

- Toutes les pastilles étaient exactement de même taille et de même épaisseur.

- La surface de contact avec le milieu de culture de la boîte de Pétri était parfaite (ce qui n'était pas le cas avec les disques de papier qui avaient tendance à se soulever par endroits).

- La concentration en produit à essayer était constante, car même les produits insolubles étaient en suspension dans le milieu.

- Les essais étaient reproductibles.

Signalons que tous les résultats que nous indiquons plus loin ont été obtenus à l'aide de cette technique aussi bien dans le cas des champignons parasites des végétaux que dans celui des champignons pathogènes pour l'homme.

III) Lecture des Résultats

Les boîtes ensemencées et contenant le disque de gélose étaient conservées bien à plat, et la mesure du rayon de la zone d'inhibition était faite toutes les 48 heures. Ce rayon, exprimé en mm, est en réalité la largeur de la zone d'inhibition, comptée à partir du bord de la pastille.

Dans les tableaux qui suivent, nous lui donnons les valeurs extrêmes :

- 0, quand nous n'avons observé aucune zone d'inhibition ;
- ∞ , quand aucune colonie n'est apparue sur la boîte.

Dans une autre colonne, nous signalons un pouvoir antifongique supérieur ou très supérieur à celui de l'acide sorbique au moyen d'un ou deux signes "+".

TABEAU 1 - CHAMPIGNONS PARASITES DES VEGETAUX

Produits testés	Penicillium digitatum			Fusarium culmorum			Mucor racemosus			Alternaria tenuis			Activité
	2j	6j	10j	2j	6j	10j	2j	6j	10j	2j	6j	10j	
ACIDE SORBIQUE	15	10	8	10	7	5	12	10	8	22	12	7	
Acide undécylénique	9	4	4	25	15	10	25	15	10	12	6	2	
Undécylénate d'heptaéthylèneglycol	0	0	0	0	0	0	6	0	0	5	2	0	
Ac. undécylénique + Und. de zinc (formule Pharmacopée anglaise)	8	8	6	12	10	7	22	20	16	12	8	3	
Sorbate de potassium	6	5	0	4	0	0	6	4	0	10	8	0	
Sorbate de sodium	4	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Sorbate de calcium	8	8	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	
Sorbate de zinc	15	15	13	13	13	12	15	15	10	20	20	15	+
Sorbate d'aluminium	12	10	6	20	15	12	15	15	12	20	20	13	+
Sorbate de cuivre	15	15	15	20	20	15	20	15	10	18	16	13	+
Sorbate de monoéthanolammonium	4	0	0	10	0	0	3	0	0	20	10	5	
Sorbate de diéthanolammonium	4	0	0	10	0	0	5	0	0	15	0	0	
Sorbate de triéthanolammonium	5	0	0	11	0	0	5	0	0	15	0	0	

TABLEAU 1 (suite)

Produits testés	Penicillium digitatum			Fusarium culmorum			Mucor racemosus			Alternaria tenuis			Activité
	2j	6j	10j	2j	6j	10j	2j	6j	10j	2j	6j	10j	
Sorbate de méthyle	∞	∞	30	20	10	0	30	20	0	∞	20	0	+
Sorbate d'éthyle	∞	∞	∞	∞	30	0	∞	∞	5	∞	∞	6	+
Sorbate de propyle	∞	∞	∞	∞	30	5	15	15	2	∞	∞	∞	++
Sorbate d'isopropyle	30	8	5	5	0	0	5	2	0	15	10	0	
Sorbate de butyle	∞	22	15	20	0	0	5	2	0	10	0	0	
Sorbate d'isobutyle	25	15	12	10	0	0	5	5	0	5	3	0	
Sorbate d'isoamyle	∞	∞	25	15	10	0	15	12	10	26	15	8	+
Sorbate de lauryle	12	3	0	8	0	0	4	0	0	5	0	0	
Sorbate de myristyle	15	3	0	10	0	0	10	5	0	10	2	0	
Sorbate de cétyle	10	5	0	16	0	0	5	0	0	8	0	0	
Sorbate de cyclohexyle	20	15	10	17	5	0	12	10	10	12	10	10	+
Sorbate de furfuryle	12	4	4	10	8	7	12	10	3	17	0	0	

TABEAU 1 (suite)

Produits testés	Penicillium digitatum			Fusarium culmorum			Mucor racemosus			Alternaria tenuis			Activité
	2j	6j	10j	2j	6j	10j	2j	6j	10j	2j	6j	10j	
Sorbate d'éthylène glycol	5	0	0	5	0	0	5	0	0	10	5	0	+
Sorbate de butoxyéthyle	∞	∞	20	10	5	5	15	12	10	25	14	8	
Sorbate de propyl-1 ol-2	15	13	13	12	5	4	15	15	12	17	13	11	
Sorbate de butyl-2 ol-3	12	12	11	10	10	10	10	10	10	17	12	11	+
Sorbate de butyldihydroxyméthyl-2,2	15	10	8	10	0	0	12	10	10	16	12	10	+
Sorbate d'époxy-2, 3 propyle	13	13	10	15	15	13	12	12	10	25	17	12	
Sorbate d'ascorbyle	4	2	0	2	2	0	6	0	0	8	0	0	
Sorbate de glucose	5	0	0	13	0	0	3	0	0	12	0	0	
Sorbate de saccharose	4	0	0	14	0	0	3	0	0	10	0	0	
Sorbate de β chloréthyle	10	10	9	10	5	0	10	8	7	15	10	10	
Sorbate de glycéryle α chloré	15	15	15	16	16	0	10	10	10	20	9	6	++
Sorbate de glycéryle β chloré	20	15	14	20	20	0	15	12	12	25	14	10	
Sorbate de dichloro αα' isopropyle	25	22	18	20	20	5	20	20	18	30	30	20	
Sorbate de dichloro αβ propyle	25	23	19	20	20	5	20	20	18	30	30	20	++
Sorbate de thiodiéthylène glycol	12	10	10	15	10	8	10	9	8	15	0	0	
Sorbate d'éthylmorpholine	5	0	0	8	0	0	8	6	6	18	10	10	
Sorbate d'aminoéthanol	0	0	0	7	0	0	0	0	0	15	0	0	
Sorbate de diméthyléthanolamine	16	15	10	15	0	0	12	10	10	15	15	10	+

TABEAU 1 (suite)

Produits testés	Penicillium digitatum			Fusarium culmorum			Mucor racemosus			Alternaria tenuis			Activité
	2j	6j	10j	2j	6j	10j	2j	6j	10j	2j	6j	10j	
Sorbamide	10	10	10	13	10	6	8	8	6	15	7	3	
N éthylsorbamide	12	10	8	15	13	10	12	12	12	20	15	13	+
N diéthylsorbamide	17	17	17	20	18	17	15	15	15	25	25	20	++
Butyl secondaire sorbamide	13	10	10	20	10	0	10	10	10	20	12	0	+
Anilide sorbique	4	0	0	7	6	5	8	8	6	12	7	3	
Pipéridino sorbamide	15	15	15	20	17	16	14	14	14	25	20	20	++
Morpholino sorbamide	16	16	16	21	20	20	17	17	17	25	25	24	++
Amino-6 hexaméthylène sorbamide	9	9	8	11	9	5	7	6	6	12	5	2	
Monéthanol sorbamide	11	11	10	14	12	8	9	9	8	15	14	10	
Diéthanol sorbamide	16	15	15	20	18	17	13	13	12	24	24	23	++
Uréide sorbique	4	2	0	2	0	0	5	0	0	8	0	0	
Thiouréide sorbique	6	5	5	3	2	0	6	0	0	10	2	0	

TABEAU II - CHAMPIGNONS PATHOGENES POUR L'HOMME

Produits testés	Trichophyton rubrum			Trichophyton mentagrophytes			Microsporum canis var. lanosum			Epidermophyton floccosum			Candida albicans			Activité
	2j	6j	10j	2j	6j	10j	2j	6j	10j	2j	6j	10j	2j	6j	10j	
ACIDE SORBIQUE	∞	∞	∞	17	10	10	16	5	5	26	3	3	10	10	10	
Acide undécylénique	∞	∞	∞	16	8	8	10	10	10	18	15	15	10	0	0	
Undécylénate d'hepta-éthylène glycol	15	8	8	4	2	0	5	5	5	2	2	2	0	0	0	
Ac. undécylénique + Und. de zinc (formule Pharmacopée anglaise)	∞	20	20	20	10	10	18	10	10	20	18	18	0	0	0	
Sorbate de zinc	∞	20	20	15	15	15	20	16	16	18	16	16	6	6	6	+
Sorbate d'aluminium	∞	∞	∞	13	12	12	15	2	2	20	15	15	2	2	0	+
Sorbate de cuivre	∞	∞	∞	13	11	11	20	20	20	25	20	20	13	13	13	++
Sorbate de méthyle	∞	∞	∞	23	10	6	∞	∞	∞	20	15	15	0	0	0	+
Sorbate d'éthyle	∞	∞	∞	∞	10	6	∞	∞	∞	∞	∞	∞	0	0	0	++
Sorbate de propyle	∞	25	25	∞	10	10	∞	30	30	∞	∞	∞	0	0	0	++
Sorbate d'isoamyle	∞	∞	∞	9	5	5	∞	∞	∞	17	15	15	0	0	0	+
Sorbate de cyclohexyle	35	33	33	15	15	14	30	30	18	∞	∞	∞	10	10	10	++
Sorbate de butyl-2 ol-3	25	25	25	15	13	13	25	25	25	30	30	30	8	8	5	++
Sorbate de butyldihydroxy-méthyl-2,2	∞	∞	∞	12	9	9	25	12	12	15	10	10	12	12	12	+
Sorbate d'époxy-2,3propyle	∞	∞	∞	15	12	12	25	15	15	22	20	20	12	12	12	++

TABLEAU II (suite)

Produits testés	Trichophyton rubrum			Trichophyton mentagrophytes			Microsporium canis var. lanosum			Epidermophyton floccosum			Candida albicans			Activité
	2j	6j	10j	2j	6j	10j	2j	6j	10j	2j	6j	10j	2j	6j	10j	
Sorbate de β chloréthyle	∞	∞	∞	16	13	13	∞	∞	∞	∞	∞	∞	15	15	15	++
Sorbate de glycéryle α chloré	∞	∞	∞	16	14	12	25	20	20	25	20	20	12	10	10	++
Sorbate de glycéryle β chloré	∞	∞	∞	13	13	13	30	22	22	∞	25	25	10	6	6	+
Sorbate de dichloro $\alpha\alpha'$ isopropyle	∞	∞	∞	15	13	13	∞	∞	∞	30	30	25	10	10	10	++
Sorbate de dichloro $\alpha\beta$ propyle	∞	∞	∞	15	14	14	∞	∞	∞	∞	∞	∞	10	10	10	++
Sorbate de thiodiéthylène glycol	∞	∞	∞	15	10	10	25	10	10	∞	∞	∞	12	12	12	+
Sorbate d'éthylamino- éthanol	∞	∞	∞	15	12	12	25	10	10	∞	∞	∞	12	12	12	++
Sorbate de diméthyl- éthanolamine	∞	∞	∞	9	5	2	25	20	20	∞	∞	∞	10	10	10	+
Sorbamide	∞	∞	∞	17	5	3	20	15	15	∞	40	40	15	15	15	+
N éthylsorbamide	∞	∞	∞	15	15	15	20	20	20	25	20	20	0	0	0	+
N diéthylsorbamide	∞	∞	∞	18	18	18	30	30	30	30	30	30	10	10	10	++
Butyl secondaire sorba- mide	30	25	22	20	17	15	20	10	10	∞	25	25	13	13	13	++

A titre de comparaison, nous avons effectué des essais parallèles avec l'acide undécylénique pris sous forme d'acide libre, de mélange avec l'undécylénate de zinc (formule de la Pharmacopée anglaise), et d'ester avec l'heptaéthylène glycol. Ces trois formules ont été choisies par suite de leur parenté chimique avec nos produits ; l'acide undécylénique est par ailleurs la substance de référence utilisée le plus souvent dans les tests antifongiques.

I - Discussion des résultats concernant l'activité des produits testés vis-à-vis des champignons parasites des végétaux.

On constate que l'acide sorbique est plus actif que l'acide undécylénique sur *Penicillium digitatum* et *Alternaria tenuis* ; par contre son activité est moindre sur *Fusarium culmorum* et *Mucor racemosus*.

Le pouvoir antifongique de l'acide sorbique va en décroissant quand on passe d' *Alternaria tenuis* à *Penicillium digitatum*, *Mucor racemosus*, et *Fusarium culmorum*.

A) Sels de l'Acide Sorbique :

a) Sorbates minéraux :

Les sels alcalins et le sorbate de calcium sont nettement moins actifs que l'acide sorbique sur tous les champignons essayés, et même souvent inactifs aux concentrations employées. Notons cependant que c'est le *Penicillium digitatum* qui est le plus sensible.

Dans le cas du sorbate de zinc, on retrouve le même ordre d'activité que pour l'acide sorbique, c'est-à-dire : *Alternaria tenuis*, *Penicillium digitatum*, *Mucor racemosus* et *Fusarium culmorum* avec un pouvoir antifongique légèrement supérieur à celui de l'acide sorbique sur *Alternaria tenuis* et *Penicillium digitatum* et nettement plus intense sur *Mucor racemosus* et *Fusarium culmorum*.

On peut aussi remarquer que le pouvoir antifongique du sorbate de zinc persiste au moins 10 jours alors que celui de l'acide sorbique diminue rapidement avec le temps. Les champignons métabolisent plus vite l'acide sorbique que le sorbate de zinc.

De même, l'activité du sorbate de zinc est supérieure et se maintient plus longtemps que celle du mélange acide undécylénique : undécylénate de zinc préconisé comme médicament antifongique par la Pharmacopée anglaise.

Ces expériences ont été réalisées avec des sorbates de zinc fraîchement préparés et des sorbates de zinc vieillis ; les résultats étant à peu

près identiques, il ne nous a pas semblé utile de les différencier, et nous avons porté dans le tableau 1 une moyenne des valeurs trouvées.

Les constatations faites pour le sorbate de zinc peuvent s'appliquer aux sorbates d'aluminium et de cuivre. Notons cependant que le sorbate d'aluminium présente une activité plus importante sur *Fusarium culmorum* et moindre sur *Penicillium digitatum*.

Dans le cas du sorbate de cuivre, l'ordre de l'activité antifongique devient *Fusarium culmorum*, *Mucor racemosus*, *Alternaria tenuis*, *Penicillium digitatum*, et la persistance de cette activité est nettement supérieure à celle trouvée pour l'acide sorbique.

b) Sorbates d'alcanolammoniums :

Le sorbate de monoéthanolammonium manifeste, vis-à-vis d' *Alternaria tenuis* et de *Fusarium culmorum*, un pouvoir antifongique immédiat à peine inférieur à celui de l'acide sorbique ; mais cette activité décroît très vite en fonction du temps ; les sels de di et tri-éthanolammonium suivent la même marche générale mais deviennent inefficaces encore plus rapidement sur *Alternaria tenuis*.

L'action des sorbates d'alcanolammoniums sur *Penicillium digitatum* et *Mucor racemosus* est nettement plus faible et disparaît au bout de 6 jours.

Les observations que nous venons de faire pour les sorbates minéraux et les sorbates d'alcanolammoniums sont en accord avec l'hypothèse que nous avons formulée au début de ce travail : "L'activité antifongique de l'acide sorbique non dissocié est supérieure à celle de l'ion sorbate".

En outre, la très grande solubilité des sorbates d'alcanolammoniums explique peut-être la disparition de l'activité antifongique de ces sels (diffusion très rapide de quantités équimoléculaires dans un volume plus grand).

Les sorbates de zinc, d'aluminium et de cuivre paraissent intéressants et dignes d'être retenus.

B) Esters de l'acide sorbique :

a) Les esters de monoalcools manifestent d'une façon gén-

rale une activité antifongique nettement supérieure à celle de l'acide sorbique avec un maximum pour le sorbate de propyle.

Fusarium culmorum et *Mucor racemosus* sont encore les souches les plus résistantes sauf dans le cas des sorbates de butyle, isobutyle, lauryle, cétyle et cyclohexyle où ce sont *Mucor racemosus* et *Alternaria tenuis*.

Pour les sorbates des monoalcools les plus légers, dont la tension de vapeur est importante, il est difficile de savoir si l'activité antifongique est due à l'action des vapeurs émises ou à celle des sorbates simplement diffusés dans le milieu solide.

Les sorbates d'alcools lourds semblent être métabolisés assez rapidement par les champignons, étant donnée la diminution de leur activité au bout d'un temps assez court.

Les esters sorbiques des alcools dont la concentration en carbone est égale ou inférieure à C₆ sont les plus intéressants et plus particulièrement le sorbate de propyle.

b) Les sorbates de polyols

Le sorbate d'éthylène glycol, de façon surprenante, s'est révélé peu actif ; ou bien il diffuse trop rapidement dans toute la boîte, ce qui entraîne une concentration locale insuffisante, ou bien il est inactif par nature à la dose employée.

Par contre, son éther butylique, est peut-être à retenir.

Les sorbates de propyle-1 ol-2, de butyle-2 ol-3 et d'époxy-2,3 propyle se sont révélés de meilleurs antifongiques que l'acide sorbique, en particulier vis-à-vis de *Fusarium culmorum* et de *Mucor racemosus*.

Mais l'activité décroît lorsqu'on augmente le nombre de groupements hydroxyles dans le radical alcoolique estérifiant l'acide sorbique. Dès le sorbate de butyl dihydroxyméthyl-2,2, elle est inférieure à celle de l'acide sorbique et surtout elle diminue très rapidement pour les sorbates dérivés des oses. Notons que la zone d'inhibition est déjà nulle au 6ème jour de culture.

c) Les sorbates d'alcools chlorés :

Dans cette série, ce sont les dérivés correspondant à la dichlorhydrine du glycérol qui se sont montrés les plus actifs vis-à-vis de toutes les souches essayées ; ils possèdent un pouvoir antifongique supérieur à

celui de l'acide sorbique. Cependant, au bout de 10 jours, ces esters voient leur activité décroître vis-à-vis de *Fusarium culmorum*.

Ces observations sont valables aussi pour les sorbates de mono-chlorhydrine du glycérol.

d) Le sorbate de thiodiéthylène glycol est vite métabolisé par *Alternaria tenuis* ; son action immédiate est à peine du même ordre que celle de l'acide sorbique et s'annule en très peu de temps. Sur les autres souches testées, il est comparable à l'acide sorbique.

e) Les esters d'alcools aminés voient leur action diminuer très nettement sauf pour l'ester sorbique de la N diméthyléthanolamine.

C) Les Amides

Les amides monosubstitués et surtout disubstitués sont plus actifs que le sorbamide. Le squelette général du diéthylsorbamide, qu'on retrouve également dans le pipéridino sorbamide, le morpholino-sorbamide et même dans le diéthanol sorbamide, semble le plus favorable.

La substitution par un noyau aromatique sur le NH_2 amidé diminue considérablement l'activité.

Dans les amides substitués, l'introduction d'un groupement hydroxyle ou d'un groupement amine la diminue aussi d'une façon notable (Ex. monoéthanol sorbamide, amino-6 hexaméthylène sorbamide).

Les uréides et thiouréides ne semblent pas intéressants.

On peut rapprocher ces conclusions de l'influence défavorable de la chaîne heptaéthylène glycol dans l'ester correspondant à l'acide undécylénique.

2 - Discussion des résultats concernant l'activité des produits testés vis-à-vis des champignons pathogènes pour l'homme.

Pour ces essais, nous n'avons retenu que les dérivés sorbiques les plus actifs dans les expériences précédentes.

Aux concentrations moléculaires équivalentes, l'acide sorbique et l'acide undécylénique ont à peu près la même activité antifongique sur les deux souches de *Trichophyton* et sur le *Candida* ; notons toutefois qu'avec cette dernière souche, l'action est très éphémère pour l'acide undécylénique tandis qu'elle persiste pour l'acide sorbique. Vis-à-vis

des deux autres souches, l'acide sorbique est, au départ, plus actif que l'acide undécylénique, mais cette supériorité s'inverse dans le temps.

a) Parmi les sorbates minéraux, le sorbate de cuivre est de loin le plus intéressant et son pouvoir antifongique est supérieur à celui du mélange acide undécylénique : undécylénate de zinc.

Le sorbate de zinc et le sorbate d'aluminium ont des propriétés voisines mais légèrement inférieures, dans l'ensemble, à celles du dérivé cuprique.

On observera que le mélange acide undécylénique : undécylénate de zinc est inactif sur *Candida albicans*.

b) Les esters

- Les esters d'alcools simples aliphatiques sont très actifs, sauf sur *Candida albicans*.

- Le sorbate de cyclohexyle manifeste une activité importante et constante vis-à-vis de toutes les souches essayées.

- Les sorbates de polyols se révèlent très intéressants dans tous nos tests, surtout les sorbates de butyle-2 ol-3 et d'époxy-2,3 propyle.

- Les esters halogénés de l'acide sorbique ont une activité antifongique nettement supérieure à celle de l'acide sorbique lui-même.

- On retiendra aussi la grande activité du sorbate d'éthylaminoéthanol et même du sorbate de N diméthyléthanolamine.

- Si le nombre des substituants hydroxylés augmente, le pouvoir antifongique tend à disparaître ; il en est de même avec les substituants aminés, ou aminés et hydroxylés, qui exercent une influence défavorable.

c) Les amides :

De même que sur les champignons parasites des végétaux, l'activité augmente ici avec le taux de substitution de l'amide. Finalement, c'est la configuration géométrique du N diéthyl sorbamide qui est la plus intéressante. Là encore, l'introduction de groupements riches en électrons est néfaste (C_6H_5- , $-OH$, $-NH$, $-CONH_2$).

Parmi les sorbamides, le N diéthylsorbamide et le butyl secondaire sorbamide sont à retenir.

Il s'agit bien entendu de conclusions qui demandent à être confirmées par des spécialistes comme nous l'avons dit au début de ce travail. Nous signalerons simplement comme pouvant intéresser les mycologues que nous avons observé une action de certains de nos dérivés sorbiques sur les synthèses pigmentaires. A titre d'exemple, le pigment rose du *Fusarium culmorum* devient jaune et les cultures d' *Epidermo - phyton floccosum* noircissent.

V

CONCLUSION

Le but de notre travail était d'améliorer les propriétés antifongiques de l'acide sorbique.

Dès le début de notre étude, nous avons dégagé l'hypothèse que la structure de l'acide non dissocié était le support fondamental de l'activité. Pour confirmer cette hypothèse, nous avons préparé différents dérivés de l'acide sorbique.

Effectivement, parmi les sorbates minéraux, les plus actifs sont ceux qui sont le moins ionisés. Le sorbate de cuivre est le plus intéressant sur la totalité des souches essayées. C'est aussi le plus stable. Il s'obtient sans difficulté par double décomposition entre un sorbate alcalin et un sel de cuivre soluble. Sa structure est vraisemblablement celle d'un complexe.

Les sorbates de zinc et d'aluminium présentent également un intérêt certain au point de vue antifongique, mais leur stabilité n'est pas parfaite.

Nous avons observé des modifications de structure au cours du vieillissement ; il s'agit surtout d'une oxydation de l'acide sorbique en dihydroxy-4,5 dihydro-4,5 sorbique, mais nous n'avons pas pu mettre en évidence la formation de peroxydes. Cette altération par ailleurs, ne s'accompagne pas de perte d'activité antifongique. Cependant, si ces deux sels devaient être retenus, il y aurait lieu de rechercher le meilleur antioxydant à introduire dans les formules galéniques pour en assurer la stabilité.

Au point de vue préparation, les seules difficultés peuvent provenir de l'hydrolyse des sorbates formés ; il faut donc limiter les lavages au strict minimum nécessaire pour enlever la majeure partie des sous-produits de la réaction.

Les sorbates d'alcanolammoniums, très ionisés par contre, n'ont

présenté aucun intérêt antifongique. S'ils sont faciles à préparer *in situ*, leur isolement et leur conservation posent quelques problèmes par suite de leur hygroscopicité, de leur grande solubilité dans presque tous les solvants et de leur tendance à brunir.

D'une façon générale, l'activité antifongique se retrouve bien pour les esters et amides sorbiques, confirmant notre hypothèse initiale puisqu'alors la fonction acide est bloquée et ne peut se dissocier. Evidemment, on observe des variations dans l'activité, mais elles peuvent être rattachées à des facteurs structuraux et à des facteurs physiques.

Au point de vue préparation de ces esters et amides, nous n'avons utilisé que des méthodes classiques : estérification ou amidification de l'acide sorbique. En fait, industriellement, il serait peut-être plus rentable de les obtenir par d'autres voies (Réactions de Wittig, de Reformatsky, condensations maloniques, etc ...), mais notre but était d'obtenir d'abord un nombre important de dérivés sorbiques et d'avoir une idée de leurs possibilités antifongiques. Nous avons remis à plus tard l'étude des meilleures conditions de synthèse, problèmes particuliers que nous pourrions alors limiter aux seuls produits intéressants.

Les esters sorbiques sont des produits qui se préparent facilement. Leur stabilité nous a paru satisfaisante ; à titre de précaution, nous les avons cependant conservés en présence d'hydroquinone.

On retrouve dans les sorbamides une structure voisine de celle des esters. Leur préparation est aisée et leur stabilité bonne. Mais, dans cette série, il est possible de montrer que l'activité antifongique et les spectres U.V. évoluent parallèlement. Ainsi, l'activité antifongique diminue lorsque le spectre U.V. de l'acide sorbique est trop perturbé.

En résumé, on peut baser l'activité antifongique des dérivés sorbiques sur les observations suivantes :

- D'une part, le radical sorboyle lui-même doit conserver sa configuration et sa polarité (spectre U.V.)
- D'autre part, la structure des radicaux bloquant la fonction acide exerce une influence certaine :

. Dans les esters, une chaîne aliphatique en C₂, C₃ ou à la rigueur en C₄, est la plus favorable. Les substituants chlorés ne modifient pas ou améliorent un peu cette activité. Un substituant hydroxylé la diminue légèrement, mais elle reste cependant supérieure à celle de l'acide

sorbique. Si le nombre des radicaux hydroxyles augmente trop, l'activité tend à disparaître.

. Dans les amides, la disubstitution sur l'azote entraîne une nette amélioration d'activité. L'influence des hydroxyles est encore néfaste.

Nous sommes donc arrivé à préparer des produits qui se révèlent plus actifs que l'acide sorbique.

Il est bien évident que notre tour d'horizon aurait pu être élargi à des études comme les suivantes :

- Remplacement du chlore des esters sorbiques chlorés par des chaînes phénoliques ou saccharidiques, des ammoniums quaternaires, etc ...

- Modification de la chaîne sorbique principale sans détruire les doubles liaisons (hydroxylation et halogénéation du groupe CH_3 initial puis condensations diverses sur l'hydroxyle ou l'halogène).

Ces projets sont déjà à l'étude au Laboratoire de Pharmacie Chimique.

VI

BIBLIOGRAPHIE

I - Introduction

- BURGER A. : Medicinal Chemistry, 2ème édition, Interscience Publishers, Inc. New-York, 1960, 1050-1056 et 945-949
CELMER W.D. et SALOMONS I.A. : J. Am. Chem. Soc., 1953, 75, 1372
DROUHET M.E. : Bull. dermat., 1965, 72, n° 3, 249-253
PATRICK J.B., WILLIAMS R.P. et WEBB J.S. : J. Amer. Chem. Soc., 1958, 80, 6688-6689
STRUYK A.P. : Antibiol. Ann., 1957-1958, 885-887

II - Généralités - Bases et Plan de notre Etude

- AZUKAS J.J. : J. of Bacteriology, 1961, 81 (2), 189
BAILLOT D'ESTIVAUX L. : Ann. Fals. Exp. Chim., 1959, 604, 149
BARRET A. et BIDAN P. : Vignes et Vins, 1960, mars, 8
BARRET A. : Ann. Fals. Exp. Chim., 1960, 619, 374
BECKER E. et ROEDER I. : Fette Seifen Anstrichmittel, 1959, 59, (5), 321
BENEKE E.S. et FABIAN F.W. : Food Technology, 1955, 9, (10), 486
BRADLEY R.L., HARMON L.G. et STINE C.M. : Milk and Food Technology, 1962, 25, (10), 318
CHENARD P.F. : Vignes et Vins, 1960, mai, 15
CLARK J.F. : J. Phys. Chem., 1899, 3, 263-316
CLARK J.F. : Botan. Gaz., 1899, 28, 263-327, 378-402
COSTILOW R.N. : Food Technology, 1957, 11
DEANE D.D. : J. of Dairy Sci., 1961, 44, (3), 457
DOLL W. : Arch. Lebensmittel-Hyg., Dtsch., 1962, 13, (1), 4
DRYDEN E.C. et HILLS C.H. : Food Technology, 1959, 13, (2), 84
EMARD L.O. et VAUGHN R.H. : J. of Bacteriology, 1952, 63, 487
ETCHELLS J.L., BORG A.F. et BELL T.A. : Appl. Microbiology, 1961, 9, (2), 139
FERGUSON W.E. et POWRIE W.D. : Applied Microbiology, 1957, 5, 41
FERTIG E.F.R. : Die industrielle Obst-, und Gemüseverwertung, 1958, 43, (23), 482
FLORENTIN D. : Ann. Fals. Exp. Chim., 1959, 612, 454
FUSEY P. : C.R. des Journées Internationales des Plastiques, Paris 1949, 176
GEMINDER J.J. : Food Technology, 1959, 13, (8), 459
GINSBERG A., SCHURIAN E. et DE SOUZA J. : Vet. Record, 1963, 75, 943
GOODING C.M., MELNICK D., LAWRENCE R.L. et LUCKMANN F.H. : Food Research, 1955, 20, 639
GOWAN Mc, BRIAN et HEMMING : Ann. appl. Biol., 1948, 35, 30
HOPE G.W. : Food Technology, 1959, 13, (8), 459

- INGRAM M. : Chem. and Industry, G.B., 1959, (18), 552
- JAULMES P. : Bulletin O.I.V., 1964, 37, (395), 43
- KALOYEREAS S., CROWN R.M. et Mc CLESKEY C.S. : Food Technology, 1961, 361
- KEENEY E.L., AJELLO L., LANKFORD E., MARY L. : Bull. Johns Hopkins Hosp., 1945, 77, 422-436
- KIESEL A. : Ann. inst. Pasteur, 1913, 27, 391-420
- KLIGMAN A.M. et GINSBERG D. : J. Invest. Dermatol., 1950, 14, 345-358
- LUCK E. : Riechst u. Aromen, 1959, 9, (5), 148
- LUCK E. et NEU H. : Z. für Lebensmittel Untersuch. u. Forsch., 1965, 126, (5), 325
- MAUGENET J. : Industries Agric. et Aliment., 1961, 78, (4), 407
- MAUGENET J. : Industries Agric. et Alim., 1962, 79, (9-10), 843
- MITCHELL J.H. : Med. Clin. N. Amer., 1948, 32, 283-296
- MONTAGNA : Kirk-Othmer, 1957, Spl.1, 847
- NURY F.S., MILLER M.W. et BREKKE J.E. : Food Technology, 1960, 14, (2), 113
- OSTER K.A., GOLDEN M.J. : J. Am. Pharm. Assn., Sc. Ed., 1947, 36, 283-288
- OUGH C.S. et INGRAHAM J.L. : Am. J. Enol. Viticult., 1960, 11, 117
- PECK S.M. et ROSENFELD H. : J. Invest. Dermatol., 1938, 1, 237-265
- PEYNAUD E. : Vignes et Vins, 1960, mars, 15
- POMERANZ Y. et ADLER L. : Bull. Res. Counc. Israël, Sect. C, 1958, 6 (4), 220
- RAIBLE K. : Fette Seifen Anstrichmittel, 1958, 60, (10), 953
- REHM H.J., WITTMANN H. et STAHL U. : Z. Lebensmittel-Untersuch. u. Forsch. Dtsch., 1961, 115, (3), 244
- RECM H.J. : Z. für Lebensmittel Untersuchung u. Forsch., 1961, 20
- REHM H.J., WALLNÖFER P. et LUKAS E.M. : Dtsch. Lebensm. Rdsch., 1963, 59, (7), 187
- ROBINSON J.F. et HILLS C.H. : Food Technology, 1959, 13, (5), 251
- ROTHMAN S., SMELZANIC A.M. et SHAPIRO A.L. : Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., 1945, 60, 394-395
- SALLER W. : Fruchtsaft-Industrie, 1957, 2, 14
- SALLER W. et KOLEWA S.R. : Mitteilungen Serie a Rebe und Wein, 1957, 21
- SALUNKHE D.K., Nature, 1956, 1, 187
- SAMISH Z. et DIMANT D. : Israël J. agric. Res., 1963, 13, (1), 37
- SMITH E.S., BOWEN J.F. et MAC GREGOR D.R. : Food Technology, 1962, 93
- SMITH D.P. et ROLLIN N.J. : Food Research, 1954, 19, (1), 59
- SMITH D.P. et ROLLIN N.J. : Food Technology, 1954, 8, 133
- SOLEIL J., MARCHAL J.G. et LOPPINET V. : Ann. Inst. Pasteur, 1966, 111, 373-375
- STEINBACH K.J. et FRANSKE C. : Die Nahrung, 1959, 713

TARANTOLA C. : Acad. ital. vite e vino, Siena, Atti., 1958, 10, 147
TARANTOLA C. : Acad. Agric. Torino, Ann., 1963, 103, 187
VERRIER J. : Chimie et Industrie, 1962, 87, (5), 631
WHITAKER J.R. : Food Research, 1959, 24, 37
WINKELMANN E. : Milchwissenschaft Dtsch., 1960, 15, (11), 565
WYSS, LUDWIG et JORNER : Arch. Biochem., 1945, 7, 422
ZALESKI St. : Die Nahrung, 1964, 245

LEGISLATION FRANCAISE :

Circulaires du 17 - 01 - 1959
 du 15 - 10 - 1959
 du 06 - 11 - 1959
 du 16 - 08 - 1960
 du 09 - 05 - 1961

III - L'Acide Sorbique

ALLEN, Van ALLAN : Org. Synth. Coll. Vol. III, 1955, 783
BIOL H. et FOULONNEAU Ch. : Annales Technologie Agricole I.N.R.A.,
1962, 11, (2), 131
BLOOMFIELD, FARMER : Soc. 1932, 2072-2074
BONIFORTI L. et coll. : Boll. lab. chim. prov. 1961, 12, (4), 505
CARBIDE et CARBON Chem. Corp., A.P., 2484067, 1949
COHEN : J. biol. Chem., 1937, 119, 339
DEMAREE G.E., SJOGREN D.W., Mc CASHLAND B.W. et COSGROVE
F.P. : J. amer. Pharm. Ass. sci. Ed. 1955, 44, (10), 619
DEUEL H.J., ALFIN-SLATER R. et WEIL C.S. : Food Research, 1954,
19, (1), 1
DEUEL H.J., CALBERT C.E., ANISFELD L., Mc KEEHAN H. et
BLUNDEN H.D. : Food Research, 1954, 19, (1), 13
DIEMAIR W., FRANZEN K. et SIEGLITZ A. : Naturwissenschaften Stsch.,
1957, 44, (6), 180
DOEBNER : B., 27, 345
DOEBNER : B. 33, 2140
DOEBNER : B. 27, 351
EISNER, ELVIDGE et LINSTED : Soc., 1953, 1375
FARMER et GALLEY : Soc., 1932, 431-434
FARMER et HUGUES : Soc., 1934, 1930
FINGERHUT M. et SCHMIDT B. et LANG K. : Biochem. Ztschr., 1962,
336, 118
FISCHER et WREDE : C., T 904, I, 154
FITTIG et BARRINGER : A., 161, 308
GODDIJN J.P. : Z. Lebensmittel Untersuch. u. Forsch., 1961, 115, (6),
534

- GUIMBERTEAU G. : Ind. alimentaires et Agricoles, 1962, 99
- HAGENEY : Ind. eng. Chem., 1949, 41, 768
- HAMADA : J. Agric. Chem. Soc. Japan, 1940, 16, 182
- HANDSCHACK W. : Nahrung Dtsch., 1963, 7, (2), 155
- HARDON H.J. et VISSER D. : Zeitschrift für Lebensmittel - Untersuchung und Forschung, vol. 108, nov. 397-402
- HEINÄNEN P. : Ann. Acad. Sci. Fennicae, A. 49, 1938, n° 4, 1 à 112
A. 59, 1943, n° 13, 3 à 28
- HOFMANN A.W. : A. 110-132
- HORNER, HOFMANN et WIPPEL : Ger. pat. 1,079,030 (to Farbw - Hoechst), 1958
- HOYEM T. : J. Ass. off. Agric. Chem., 1962, 45, (4), 902
- INGOLD, PRITCHARD et SMITH : Soc., 1934, 82-84
- INGOLD et SHAH : Soc., 1936, 886-889
- ISAACS et WILSON : Soc., 1936, 203-574
- JACQUIN P. : Annales Technologie Agricole I.N.R.A., 1960, 9, (4), 393
- JAULMES P., MESTRES R. et MANDROU B. : Ann. Fals. Exp. Chim., 1964, 664, 119
- JAWORSKI et REFORMATSKI : B., 35, 3639
- JOLY, AMIAR : Bl., 1947, 140
- KOOPAL, WERSTRIGDEN, PESCH et DENUMENS : U.S., 3,056,830, 2 oct. 1962
- KUCHEROV, KOVALEV, NAZAROVA et YANOSKAYA : Izu. Akad. Nauk. SSSR, otd. Khim. Nauk., 1960, 1512
- KUHN, KOHLER : Z. Physiol. Chem., 1937, 247, 197-212
- KUHN et MÖLLER : Ang. Ch., 1934, 47, 147
- KUHN et ROTH : B. 1933, 66, 1278
- LANG K. : Arzneimittel Forschung, 1960, 10, (12), 997
- LONSDALE, ROBERTSON et WOODWARD : Pr. Roy. Soc., (A), 1941, 178, 44
(A), 178, 48
- LUCKMANN F.H. et MELNICK D. : Food Research, 1955, 20, (6), 649
- MARX H. et SABALITSCHKA T. : Riechst u. Aromen, 1963, 13, (12), 376
- MAUREL A. et TOUYE : C.R. Acad. Agriculture de Fr., 1962, 48, (5), 268
- MAZUYAMA et SUZUKI : Pr. Acad. Tokyo, 7, 268, C. 1931, II, 2594
- MELNICK D. et LUCKMANN F.H. : Food Research, 1954, 19, (1), 20
1954, 19, (1), 28
- MULLIKEN R.S. : J. Chem. Phys., 1939, 7, 121
Rev. Mod. Phys., 1942, 14, 265
- NOTTBOHM : A. 412-77
- NURY F.S. et BOLIN H.R. : J. of Food Science, 1962, 27, (4), 370
- OLIVARI L. et BENASSI R. : Boll. lab. chim. prov. (Italie), 1960, 11, (3), 343
- OSTWALD : Ph. ch., 3, 274
- RIEDEL : A., 361, 90
- ROSSMANN : B. 1932, 65, 1850

- SCHMIDT H. : Z. Anal. Chem., 1960, 178, (3), 173
SINNHubER R.O., YU T.C. et CHANG YU T. : Food Research, 1958, 23, 626
SMEDLEY et LUBRYNSKA : Biochem. J., 7, 370
STILZ W. et POMMER H. : B.A.S.F. germ., 1,109,671
Appl. oct. 1958, 17
C.A., 1962, 56, 8571 a
STOCHMANN : Ph. ch., 10, 416
TAKAHASHI, FUJIWARA et OHTA : Bull. chem. Soc. Japan, 1962, 35, 1498
THOMAS et SUDBOROUGH : Soc., 101-327
TOIVONEN, HEINÄNEN et WESTMAN : Suomen Kem., 1931, 4B, 23
C. 1932, I, 1077
WILSON : Trans Electroch. soc., 1939, 75, 355-361
6ème Rapport Comité Mixte F.A.O./O.M.S. : F.A.O., 1962 (rapport technique n° 228)

IV - Dérivés de l'Acide Sorbique

- AMIEL J. : C.R. 1938, 207, 1097
Bull. Soc. chim., 1939, 6, 251
Bull. Soc. chim., 1941, 8, 348
AMIEL J. et DIXMIER J. : Bull. Soc. chim., 1950, 17, 415
AMIEL J., PLOQUIN J. et DIXMIER J. : C.R., 1951, 232, 2097-2099
AUWERS V. : J. pr. (2), 105, 375
AUWERS V. et EISENLOHR : J. Pr. (2), 84, 92
CHABAREK et MARTELLE : J. am. chem. Soc., 1953, 75, 2888
DOEBNER et WOLFF : B. 34, 2221-2222
FARMER et MORRISON et JONES : Soc., 1940, 1343
HAMADA : J. Agric. Chem. Soc. Japan, 1940, 16, 182
HEILBRON et JONES et O'SULLIVAN : Soc., 1946, 868
HEINÄNEN : Ann. Acad. Sci. Fennicae, 1938, A 49, n° 4, 1 à 112
1943, A 59, n° 13, 3 à 28
HOFMANN A.W. : A., 110-138
KOHLER et BUTLER : Am. Soc., 1926, 48, 1043
KUHN et GRUNDMANN : B. 1936, 69, 227
KUHN : Z. physiol. Chem., 1937, 247, 203
MELLOR et MAHY, Nature, 1947, 159, 370
1948, 161, 437
PFEIFFER, THIELER et GLASER, J. prakt. Chem., 1939, 152, 145
PLOQUIN J. : Bull. Soc. chim., 1951, 18, 757
PLOQUIN J. et VERGNEAU C. : C.R., 1951, 232, 2439
POSNER et RHODE : B., 43, 2670
RIEDEL et SCHULZ : A., 367, 36
RIGG et ROSENTHALL : Am. Soc., 1949, 71, 2866

SIGWALT P. : Bull. Soc. chim., 1959, n°1, 54-60

VAN HUITERT et coll. : J. Am. Chem. Soc. : 1953, 75, 451, 455, 457, 2736, 2739, 3577

VERGNEAU C : C.R., 1951, 233, 164

Diplôme d'Etudes Supérieures - Poitiers, 1951

VORLANDER, WEISSHEIMER et SPONNAGEL : A. 345, 228

WHEELER : Am. Soc., 1948, 70, 3268

Vu, le Président de Thèse,

J. PLOQUIN

Vu, le Doyen de la Faculté
Mixte de Médecine et de
Pharmacie de Nantes,

Y. BOQUIEN

Vu et permis d'imprimer,
Le Recteur de l'Académie,

M. SCHMITT

